

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGROECOSSISTEMAS**

Vítor Gabriel Ambrosini

**CALAGEM COMO AMENIZANTE DA TOXIDEZ DE COBRE
EM AVEIA PRETA (*Avena strigosa*) E EM VIDEIRAS JOVENS
(*Vitis* sp.)**

**Florianópolis
2015**

Vítor Gabriel Ambrosini

**CALAGEM COMO AMENIZANTE DA TOXIDEZ DE COBRE
EM AVEIA PRETA (*Avena strigosa*) E EM VIDEIRAS JOVENS
(*Vitis* sp.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Agroecossistemas.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Brunetto

Co-orientador: Prof. Dr. Jucinei José Comin

Co-orientador: Prof. Dr. Alcione Miotto

**Florianópolis
2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Ambrosini, Vítor Gabriel

Calagem como amenizante da toxidez de cobre em aveia preta (*Avena strigosa*) e em videiras jovens (*Vitis* sp.) / Vítor Gabriel Ambrosini; orientador, Gustavo Brunetto; co-orientador, Jucinei José Comin; co-orientador, Alcione Miotto - Florianópolis, SC, 2015.

115 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas.

Inclui referências

1. Agroecossistemas. 2. Cobre. 3. Calagem. 4. Aveia preta. 5. Videiras jovens. I. Brunetto, Gustavo. II. Comin, Jucinei José. III. Miotto, Alcione. IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas. V. Título.

**"Calagem como amenizante da toxidez de
cobre em aveia preta (*Avena strigosa*) e em
videiras jovens (*Vitis sp.*)"**


Por


Vitor Gabriel Ambrosini

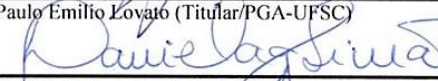
Dissertação julgada adequada, em 20 de fevereiro de 2015, e aprovada em sua forma final, pelo Orientador e Membros da Banca Examinadora, para obtenção do título de Mestre em Agroecossistemas. Área de Concentração Agroecologia, no Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias/UFSC.

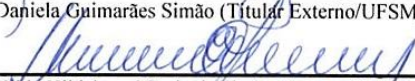

Prof. Dr. Ademar Antonio Cazella (Coordenador do Programa)

Banca Examinadora:

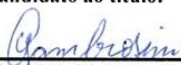

Dr. Gustavo Brunetto (Presidente /Orientador)


Dr. Paulo Emilio Lovato (Titular/PGA-UFSC)


Drª Daniela Guimarães Simão (Titular Externo/UFSM)


Drª Hilda Hildebrand Soriani (Titular Externo/UFSM)

Candidato ao título:


Vitor Gabriel Ambrosini

Florianópolis, 20 de fevereiro de 2015

Dedico aos meus pais, Francis-
co e Ana Cleusa, às minhas irmãs,
Camila e Helena, e à minha namorada,
Joana, pelo amor, amizade e compa-
nheirismo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Francisco e Ana Cleusa, pelo amor incondicional, pela amizade, pelo apoio moral e financeiro, pelos conselhos e ensinamentos, por sempre me incentivarem a alcançar os meus objetivos e por nunca medirem esforços para que eu e minhas irmãs tivéssemos uma boa formação.

À Joana, minha namorada e amiga, por todo amor, carinho e companheirismo, e por sempre me dar forças para buscar os meus sonhos.

Às minhas irmãs, Camila e Helena, pelo amor, carinho e amizade, pelos conselhos e por sempre me incentivarem a seguir em frente.

À vó Judit e ao vô Valentin, aos meus tios Valmir, Vilmar, Nei, Glória, Cléia, Nana, Titi, Pim e Zica, que foram fundamentais na minha formação e sempre me incentivaram a ir cada vez mais longe.

Aos meus primos, especialmente ao Artur, a quem considero um irmão, pela parceria, amizade e pelos bons momentos.

Aos meus sogros, Salézio e Sandra, pelo carinho, amizade e pelos conselhos.

Ao meu cunhado, Bruno, às minhas cunhadas, Beta e Duda, e aos meus concunhados, Humberto e Tiago, pela parceria, amizade e pelos bons momentos.

Ao professor Gustavo Brunetto, meu orientador, pelos ensinamentos e conselhos, pela amizade, pelo incentivo e por toda a confiança depositada, e por ser um exemplo de profissional.

Aos professores Jucinei José Comin, Cláudio Roberto F. S. Soares e Daniela Guimarães Simão, pela valiosa contribuição na minha

dissertação, pelos ensinamentos e conselhos, pelas boas conversas e pela amizade.

Aos professores Paulo Emílio Lovato, Cledimar Rogério Lourenzi e Arcângelo Loss, pelos ensinamentos, conselhos e pelas boas conversas e pela amizade.

Ao professor Alcione Miotto, ao pesquisador George Wellington Bastos de Melo e à professora Marisa Santos pelas valiosas contribuições para a realização deste trabalho.

Ao Daniel José Rosa, que foi o meu grande parceiro na realização do trabalho.

Ao Marcelo Borghezán e à Jenny Paola Corredor Prado, pelas grandes contribuições para a realização deste trabalho.

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Análise de Solo, Água e Tecidos Vegetais, especialmente ao Matheus, Alemão, Rafa, Cleiton, Lucas, Vilmar, Elano, Talita, Ludi, Andria, Monique e Camila, pela parceria e pelos grandes momentos proporcionados.

À Marlene, Andréa e Bia, por toda ajuda prestada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, ao Departamento de Engenharia Rural e de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Catarina, pela disponibilidade de estrutura necessária para a realização dos trabalhos.

À CAPES, pela bolsa de mestrado, e ao CNPq e à FAPERGS, pelo financiamento dos trabalhos.

Obrigado a todos!

RESUMO – As sucessivas aplicações de fungicidas à base de Cu em vinhedos causam o acúmulo do metal pesado no solo. O Cu é um nutriente essencial às plantas, porém, o seu excesso pode provocar sintomas de toxidez, como danos nas raízes, inibição da absorção de nutrientes e do crescimento das plantas. Em vinhedos, os sintomas de toxidez de Cu podem ser observados em videiras jovens recém transplantadas e em plantas de cobertura do solo, como a aveia preta. A toxidez de Cu nas videiras pode retardar o início do seu período produtivo, gerando prejuízos econômicos; em plantas de cobertura do solo pode reduzir a biomassa ou mesmo haver a morte das plantas, deixando o solo descoberto, o que se reflete em menor ciclagem de nutrientes e maior potencial de erosão. Todavia, os efeitos tóxicos do Cu podem ser amenizados pela calagem, normalmente realizada na implantação do vinhedo. O trabalho objetivou avaliar: (a) o efeito da calagem como amenizante da toxidez de Cu em aveia preta cultivada em solo com textura arenosa; (b) o efeito da calagem como amenizante da toxidez de Cu em videiras jovens cultivadas em solo com textura arenosa. Para isso, foram realizados dois estudos. Em ambos, os tratamentos consistiram da adição no solo de doses crescentes de calcário (0,0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹) e duas de Cu (0 e 50 mg kg⁻¹). No Estudo 1, cultivaram-se plantas de aveia por 30 dias e, posteriormente, avaliou-se altura das plantas, massa seca de raízes e parte aérea, teor e acúmulo de nutrientes nas raízes e na parte aérea, teor de clorofilas *a*, *b* e total, carotenoides, e carboidratos solúveis e amido totais. No Estudo 2, cultivaram-se videiras jovens ‘Niágara Branca’ por 70 dias e, posteriormente, avaliaram-se o diâmetro, área do córtex e do cilindro vascular, número de camadas do córtex e de células contendo compostos fenólicos nas raízes, matéria seca de raízes, caule e folhas, incremento

em altura, teor e acúmulo de Cu, Ca e Mg nas raízes, caule e folhas. A dose de 50 mg kg⁻¹ de Cu no solo inibiu o crescimento da aveia preta, afetou a distribuição interna dos nutrientes, reduziu a concentração de clorofila e aumentou os teores de carboidratos solúveis e amido totais nas folhas; e, nas videiras jovens, afetou a estrutura das raízes, inibiu o crescimento, reduziu o teor de Ca e incrementou o teor e a porcentagem de Cu acumulado nas raízes das plantas. Considerando um cultivo concomitante de aveia preta e de videiras jovens em uma área de vinhedo com um solo com características semelhantes ao utilizado no presente estudo, a dose de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário seria a mais adequada para amenizar os efeitos de toxidez de Cu e permitir o bom crescimento e desenvolvimento das duas espécies.

Palavras-chave: metal pesado; calcário; absorção de nutrientes; anatomia de raízes.

ABSTRACT – Successive applications of Cu-based fungicides in vineyards lead to the accumulation of heavy metal in the soil. Cu is an essential nutrient to plants, but it can cause symptoms of toxicity when in excess, such as damage in roots, inhibition of nutrient uptake and plant growth inhibition. In vineyards, the symptoms of Cu toxicity can be observed in young newly transplanted vines and cover crops such as oats. Cu toxicity in the vines may delay the onset of their productive period, generating economic losses; in cover crops may reduce biomass or even the plant death, leaving the soil uncovered, causing less nutrient cycling and increased potential for erosion. However, liming, usually held in vineyard deployment, can ameliorate the toxic effects of Cu. The study aimed to evaluate: (a) the effect of liming as a Cu-toxicity ameliorator in black oat grown in soil with sandy texture; (b) the effect of liming as a Cu-toxicity ameliorator in young vines grown in soil with sandy texture. For this, two studies were conducted. In both studies, the treatments consisted of soil supplementation with increasing doses of lime (0.0, 1.5 and 3.0 Mg ha⁻¹) and two doses of Cu (0 and 50 mg kg⁻¹). In Study 1, oat plants were grown for 30 days and, subsequently, the plant height, root and shoot dry mass, levels of *a*, *b* and total chlorophyll, carotenoids, soluble carbohydrates and total starch were assessed. In Study 2, young vines 'Niagara Branca' were grown for 70 days and, subsequently, diameter, cortex and vascular cylinder areas, number of cortical layers and of cells containing phenolic compounds in roots, dry matter of roots, stems and leaves, height increment, content and accumulation of Cu, Ca and Mg in the roots, stems and leaves were assessed. The dose of 50 mg kg⁻¹ Cu in the soil inhibited black oat growth, affected the internal distribution of nutrients, decreased the chlorophyll concentration and

increased the levels of total soluble carbohydrates and starch in leaves; and, in young vines, it affected the root structure, inhibited plant growth, decreased the Ca content and increased the content and the percentage of Cu accumulated in roots. Considering a concomitant cultivation of black oat and young vines in a vineyard area with a soil with similar characteristics to that used in the present study, the dose of 3.0 Mg ha⁻¹ of lime is the most appropriate to mitigate the effects of toxicity Cu and allow good growth and development of both species.

Keywords: heavy metal; lime; nutrient uptake; root anatomy.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CCA – Centro de Ciências Agrárias

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CTC – capacidade de troca de cátions

CV – coeficiente de variação

DMSO – dimetilsulfóxido

DNA – ácido desoxirribonucleico

EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético

Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ENR – Departamento de Engenharia Rural

ERO – espécies reativas de oxigênio

FAPERGS – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

MF – matéria fresca

MOS – matéria orgânica do solo

MS – matéria seca

Na₂-EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético dissódico

RNA - ácido ribonucleico

RS – Rio Grande do Sul

PRNT – poder relativo de neutralização total

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

UFSM – Universidade Federal de Santa Maria

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

° – grau

°C – grau Celsius

$\mu\text{g kg}^{-1}$ – micrograma por quilograma

$\mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ – micromol de f\u00f3tons por metro quadrado por segundo

% – porcentagem

Al - alum\u00ednio

As - ars\u00eanio

B – boro

Ca – c\u00e1lcio

CaCl_2 – cloreto de c\u00e1lcio

CaCO_3 – carbonato de c\u00e1lcio

Ca(OH)_2 – hidr\u00f3xido de c\u00e1lcio

Cl – cloro

cm – cent\u00edmetro

$\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ – centimol de carga por quilograma

Cu – cobre

CuSO_4 – sulfato de cobre

Fe – ferro

g dm^3 – grama por dec\u00edmetro c\u00fabico

g kg^{-1} – grama por quilograma

H – hidrog\u00eanio

H_2O - \u00e1gua

HNO_3 – \u00e1cido n\u00edtrico

K – pot\u00e1ssio

kg - quilograma

Mg – magnésio

mg - miligrama

MgCO₃ – carbonato de magnésio

Mg ha⁻¹ – megagrama por hectare

mg kg⁻¹ – miligrama por quilograma

mL - mililitro

mm – milímetro

Mn - manganês

Mo – molibdênio

mol L⁻¹ – mol por litro

N – nitrogênio

Na – sódio

OH – hidróxido

P – fósforo

pH - potencial hidrogeniônico

PO₄⁻³ – fosfato

r – coeficiente de correlação de Pearson

S – enxofre

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Teores (a, c, e, g, i, k, m – respectivamente) e acúmulo (b, d, f, h, j, l, n – respectivamente) de Cu, N, P, K, Ca, Mg e Fe em raízes de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses de calcário.....62

Figura 2. Teores (a, c, e, g, i, k, m – respectivamente) e acúmulo (b, d, f, h, j, l, n – respectivamente) de Cu, N, P, K, Ca, Mg e Fe na parte aérea de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses de calcário.....63

Figura 3. Secções longitudinais do ápice radicular de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 0,0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário.....96

Figura 4. Secções transversais a 0,5–2,0 cm do ápice radicular de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 0,0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário.....97

Figura 5. Teores de Cu (a, b, c), Ca (d, e, f) e Mg (g, h, i) em raízes, caule e folhas, respectivamente, de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses de calcário.....100

Figura 6. Porcentagem relativa de Cu (a), Ca (b) e Mg (c) acumulados nas raízes, no caule e nas folhas de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses de calcário.....101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atributos químicos e granulométricos do Argissolo Vermelho utilizado no cultivo de aveia preta (*Avena strigosa*) com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.....59

Tabela 2. Valores de F e coeficientes de variação calculados na análise de variância para todas as variáveis analisadas em aveia preta (*Avena strigosa*) cultivada em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.....60

Tabela 3. Matéria seca de raízes e de parte aérea, e altura de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivada em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.....61

Tabela 4. Clorofilas *a*, *b* e total, carotenoides, carboidratos solúveis totais e amido total nas folhas de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário..64

Tabela 5. Atributos químicos e granulométricos do Argissolo Vermelho utilizado no cultivo de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.....94

Tabela 6. Valores de F e coeficientes de variação calculados na análise de variância para todas as variáveis analisadas em videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.....95

Tabela 7. Diâmetro, áreas do córtex e do cilindro vascular, número de camadas do córtex e número de células do córtex com compostos

fenólicos de raízes de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*)
cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de
calcário.....98

Tabela 8. Matéria seca de raízes, do caule e das folhas, e incremento em
altura de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas
em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário...99

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	25
2. ESTUDO 1 – CALAGEM COMO AMENIZANTE DA TOXIDEZ DE COBRE EM AVEIA PRETA (<i>Avena strigosa</i>).....	29
2.1. INTRODUÇÃO.....	30
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
2.2.1. Coleta e preparo do solo.....	32
2.2.2. Obtenção do material vegetal.....	33
2.2.3. Condução experimental.....	33
2.2.4. Amostragem do material vegetal.....	34
2.2.5. Análises de nutrientes nos tecidos vegetais.....	35
2.2.6. Análises de pigmentos fotossintéticos e açúcares	35
2.2.7. Análises estatísticas.....	36
2.3. RESULTADOS	36
2.3.1. Matéria seca e altura das plantas	36
2.3.2. Teor e acúmulo de nutrientes nas raízes.....	37
2.3.3. Teor e acúmulo de nutrientes na parte aérea	40
2.3.4. Pigmentos fotossintéticos e açúcares	42
2.4. DISCUSSÃO	43
2.4.1. Matéria seca e altura das plantas	43
2.4.2. Teor e acúmulo de nutrientes na planta.....	45
2.4.3. Pigmentos fotossintéticos e açúcares	49
2.5. CONCLUSÕES	50
2.6. AGRADECIMENTOS	50
2.7. REFERÊNCIAS	51
3. ESTUDO 2 – A CALAGEM PODE AMENIZAR A FITOTOXIDEZ DE COBRE: UM ESTUDO ENVOLVENDO ANATOMIA RADICULAR DE VIDEIRAS JOVENS (<i>Vitis labrusca</i> L.).....	65
3.1. INTRODUÇÃO.....	66
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	68
3.2.1. Coleta e preparo do solo.....	68
3.2.2. Obtenção do material vegetal.....	69
3.2.3. Condução experimental.....	70
3.2.4. Análise anatômica das raízes.....	71
3.2.5. Amostragem do material vegetal.....	72
3.2.6. Análises de nutrientes nos tecidos vegetais.....	72
3.2.7. Análises estatísticas.....	73

3.3.	RESULTADOS	73
3.3.1.	Estrutura anatômica das raízes.....	73
3.4.	DISCUSSÃO.....	79
3.4.1.	Estrutura anatômica das raízes e crescimento das plantas.....	79
3.4.2.	Teor e acúmulo de nutrientes nas plantas	83
3.5.	CONCLUSÕES	84
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	102
5.	REFERÊNCIAS.....	105

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo de videiras (*Vitis* sp.) no Brasil iniciou no século XVI com a chegada dos colonizadores portugueses. Presume-se que as primeiras videiras teriam sido trazidas por Martim Afonso de Souza e eram de cultivares viníferas (*Vitis vinifera*), provenientes da Espanha e de Portugal. No entanto, o desenvolvimento da viticultura brasileira baseou-se em cultivares americanas (*Vitis labrusca*), com destaque para ‘Isabel’ na elaboração de vinhos, e ‘Niágara Branca’ e ‘Niágara Rosada’ como uvas de mesa (Ibravin, 2010; Leão, 2010).

O Rio Grande do Sul (RS) se destaca na vitivinicultura brasileira, ocupando o primeiro lugar em área plantada e colhida, assim como na produção de uvas (Mello, 2014). No estado, as primeiras videiras foram introduzidas no século XVII pelos padres jesuítas, mas a vitivinicultura do RS só foi impulsionada no final do século XIX com a chegada dos imigrantes italianos, tradicionalmente produtores e consumidores de vinhos (Leão, 2010). Inicialmente, os vinhedos concentraram-se na região da Serra Gaúcha e, especialmente, a partir da década de 1970 a Campanha Gaúcha também se tornou uma importante região produtora de uvas e de vinhos.

No Sul do Brasil, ao longo do ciclo de cultivo das videiras ocorrem frequentes precipitações pluviométricas, o que favorece a multiplicação de patógenos, especialmente nas folhas e nos cachos, capazes de causar danos severos à cultura, com consequente perda de produtividade e de qualidade dos frutos (Jermini et al., 2010). Por isso, a produção de uvas só é viável com aplicações sucessivas de fungicidas para o controle de doenças fúngicas foliares (Matasci et al., 2008; Peruch & Della Bruna, 2008).

A maioria dos fungicidas, como a calda bordalesa [$\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{CuSO}_4$], contém cobre (Cu) na sua composição, a sua aplicação continuada sobre as folhas das videiras tem ocasionado o acúmulo do metal em solos de vinhedos de tradicionais regiões vitivinícolas do Sul do Brasil (Mirlean et al., 2007; Casali et al., 2008; Nogueirol et al., 2010; Brunetto et al., 2014; Couto et al., 2015).

O Cu tende a formar ligações físico-químicas com os grupos funcionais de partículas reativas do solo que, por sua vez, definem os fenômenos de sorção. A disponibilidade desses elementos no solo depende do teor e da composição da matéria orgânica do solo (MOS) (Ponizovsky et al., 2006), da fração mineral do solo, que possui alta afinidade pela fração argila, especialmente o grupo dos óxidos, e do valor de pH (Agbenin & Olojo, 2004; Nogueirol et al., 2010). No entanto, após anos de aplicações sucessivas de fungicidas à base de Cu há um aumento de todas as frações deste metal no solo, com consequente aumento da disponibilidade do mesmo no solo, especialmente em solos ácidos e arenosos, como aqueles da Campanha Gaúcha (Brunetto et al., 2014). Com o passar dos anos, a produtividade de uva diminui, havendo a necessidade de erradicação dos vinhedos mais antigos para, em seguida, revolver o solo e realizar um novo transplante de videiras jovens. Com isso, a oxidação da matéria orgânica é potencializada, aumentando a disponibilidade de Cu, que pode ser tóxico quando há altos teores no solo (Toselli et al., 2009).

O Cu é um nutriente essencial às plantas, fazendo parte de vários compostos orgânicos, como proteínas e enzimas vitais ao metabolismo vegetal, atuando no controle da síntese de DNA e RNA, e participando de vários processos fisiológicos, como fotossíntese, respiração e

distribuição de carboidratos (Kabata-Pendias, 2011). Porém, quando em excesso pode provocar alterações anatômicas, morfológicas e fisiológicas, tal como danos nas raízes, inibição da absorção de nutrientes, redução da taxa fotossintética e no crescimento das plantas (Michaud et al., 2008; Toselli et al., 2009; Lequeux et al., 2010; Cambrollé et al., 2015).

Em vinhedos, os sintomas de toxidez de Cu também podem ser observados em plantas que coabitam a área, como videiras jovens recém transplantadas e plantas de cobertura do solo, como a aveia preta (*Avena strigosa*) (Santos et al., 2004). A toxidez de Cu pode retardar o crescimento das videiras jovens e atrasar o início do período produtivo, causando prejuízos econômicos ao produtor. Os sintomas de toxidez de Cu quando observados em plantas de cobertura do solo, como a aveia preta, também podem causar prejuízos ao cultivo das videiras. Isso porque a redução da biomassa ou, até mesmo, a morte das plantas de cobertura do solo, deixa o solo descoberto, ocasionando a menor ciclagem de nutrientes e maior potencial de erosão.

Com a prática da calagem, que normalmente é realizada na implantação do vinhedo, há o aumento do valor de pH e da capacidade de troca de cátions (CTC) do solo, reduzindo a disponibilidade do Cu às plantas (Agbenin & Olojo, 2004; Joris et al., 2012). Além disso, a calagem também pode ser benéfica por fornecer cálcio (Ca) e magnésio (Mg) às plantas, já que estes nutrientes em solução podem amenizar os efeitos causados pelo Cu na anatomia das raízes, diminuir o transporte de Cu para a parte aérea e promover o aumento da biomassa das plantas (Chen et al., 2014; Juang et al., 2014). Então, a aplicação de calcário no solo antes da implantação do vinhedo pode ser uma das estratégias para

amenizar o efeito tóxico do Cu em plantas de aveia preta e em videiras jovens.

A aplicação de calcário no solo antes da implantação do vinhedo, portanto, pode ser uma das estratégias para amenizar a toxidez de Cu às videiras jovens e às plantas de cobertura do solo, como a aveia preta. No entanto, as doses de calcário com capacidade de amenizar a toxicidade do Cu variam em função das espécies de plantas e da acidez potencial do solo (Kaminski et al., 2007), que está associada, especialmente, ao teor de argila e matéria orgânica. Sendo assim, é muito importante a realização de estudos que incluam a avaliação das respostas nutricionais, anatômicas, fisiológicas e de crescimento das plantas quando submetidas à adição de calcário no solo para amenizar o estresse por Cu.

O trabalho objetivou: (a) avaliar o efeito da calagem como amenizante da toxidez de Cu em aveia preta cultivada em solo com textura arenosa; (b) avaliar os efeitos da toxicidade de Cu sobre a anatomia radicular de videiras jovens e o efeito amenizante da calagem em solo de textura arenosa com alto teor de Cu.

2. ESTUDO 1 – CALAGEM COMO AMENIZANTE DA TOXICIDADE DE COBRE EM AVEIA PRETA (*AVENA STRIGOSA*)

RESUMO – O trabalho objetivou avaliar o efeito da calagem como amenizante da toxicidade de Cu em aveia preta cultivada em solo com textura arenosa. Os tratamentos consistiram da adição de doses crescentes de calcário (0,0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹) e duas de Cu (0 e 50 mg kg⁻¹) em solo de textura arenosa. Sementes de aveia preta pré-germinadas foram cultivadas por 30 dias no solo e, em seguida, avaliou-se a altura das plantas, a massa seca de raízes e de parte aérea, o teor e o acúmulo de nutrientes nas raízes e na parte aérea, o teor de clorofilas *a*, *b* e total, o teor de carotenoides, a concentração de carboidratos solúveis e amido totais nas folhas. A dose de 50 mg kg⁻¹ de Cu no solo causou efeito tóxico sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas de aveia preta, afetando a distribuição interna dos nutrientes, reduzindo a concentração de clorofila nas folhas e aumentando os teores de carboidratos solúveis totais e amido total nas folhas. O incremento das doses de calcário amenizou os efeitos tóxicos do Cu pela redução da sua absorção e pela melhor distribuição dos outros nutrientes no interior das plantas de aveia preta, ocasionando maior crescimento e produção de matéria seca.

Palavras-chave: metal; calcário; pigmentos fotossintéticos; açúcares; *Avena strigosa*.

2.1. INTRODUÇÃO

As sucessivas aplicações de fungicidas à base de cobre (Cu) para controle fitossanitário de doenças fúngicas foliares em vinhedos causam o acúmulo de Cu no solo, especialmente nas camadas mais superficiais do solo (Brunetto et al., 2014; Couto et al., 2015).

A aveia preta (*Avena strigosa*) tem sido uma das espécies utilizadas nos vinhedos como planta de cobertura para proteger a superfície do solo de processos erosivos e promover a ciclagem de nutrientes (Dalla Rosa et al., 2009). No entanto, em muitos vinhedos a espécie tem apresentado sinais de toxidez por Cu, como clorose e redução no crescimento, que se reflete em menor produção de matéria seca e, por consequência, menor ciclagem de nutrientes e maior potencial de erosão (Santos et al., 2004).

O Cu é um nutriente essencial às plantas porque faz parte de compostos orgânicos, como proteínas e enzimas vitais ao metabolismo vegetal; atua no controle da síntese de DNA e RNA; participa de vários processos fisiológicos, como fotossíntese, respiração e distribuição de carboidratos, entre outras funções (Kabata-Pendias, 2011). No entanto, o excesso desse metal no solo pode causar danos e restrição ao crescimento radicular, provocando redução na absorção de água e de nutrientes pelas raízes (Kopittke et al., 2009; Chen et al., 2013). Além disso, as plantas expostas ao Cu podem apresentar redução na concentração de pigmentos e na taxa fotossintética, causando redução no crescimento e desenvolvimento da parte aérea (Cambrollé et al., 2013; 2015). A redução da taxa fotossintética e do crescimento da planta, por sua vez, pode causar o acúmulo de carboidratos nas folhas, pela menor demanda por energia e, assim, alterar o padrão de distribuição dos fotoassimilados

(Alaoui-Sossé et al., 2004). Por isso, a determinação das concentração de carboidratos contribui como um importante indicador de estresse.

A prática da calagem, normalmente realizada na implantação do vinhedo, promove o aumento do valor de pH e da capacidade de troca de cátions (CTC) do solo, reduzindo a disponibilidade do Cu às plantas e, conseqüentemente, atenuando os efeitos de toxidez do metal (Agbenin & Olojo, 2004; Joris et al., 2012). Além disso, a calagem promove o aumento nos teores de Ca e Mg trocáveis no solo, o que pode auxiliar na amenização dos efeitos tóxicos do Cu. O aumento nos teores de Ca e Mg no interior da planta reduz possíveis alterações provocadas pelo Cu na anatomia das raízes (Chen et al., 2013), pois estes nutrientes são constituintes da pectina presente na lamela média e, por isso, o seu incremento na planta promove o reforço da parede celular (Hawkesford et al., 2012). Além disso, o incremento no teor de Mg na parte aérea auxilia na manutenção da taxa fotossintética, que é reduzida quando há excesso de Cu, pois há substituição do Mg pelo metal como íon central da molécula de clorofila (Yruela, 2009). Além disso, o aumento do pH do solo promove maior disponibilidade de P às plantas, sendo importante para amenizar os efeitos de metais nas plantas através da formação de compostos de metal-fosfato menos móveis nas raízes das plantas, diminuindo o transporte do metal para a parte aérea (Soares & Siqueira, 2008).

Assim, a aplicação de calcário no solo antes da implantação do vinhedo ou mesmo ao longo do ciclo das videiras é uma das estratégias para minimizar o efeito tóxico do Cu à aveia preta. Entretanto, como as doses de calcário com capacidade de amenizar a toxicidade do Cu variam em função das espécies de plantas e da acidez potencial do solo

(Kaminski et al., 2007), que está associada, especialmente, ao teor de argila e matéria orgânica, denota-se a importância da realização de estudos dessa natureza, incluindo a avaliação das respostas nutricionais, fisiológicas e de crescimento das plantas quando submetidas ao estresse por Cu.

O trabalho objetivou avaliar o efeito da calagem como amenizante da toxidez de Cu em aveia preta cultivada em solo com textura arenosa.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Coleta e preparo do solo

O solo utilizado no experimento foi coletado na camada de 0-20 cm em uma área de campo nativo adjacente a vinhedos no município de Santana do Livramento, região da Campanha Gaúcha (RS), região Sul do Brasil. O solo foi classificado como Argissolo Vermelho (Embrapa, 2013). Após a coleta, o solo foi seco ao ar, passado em peneira com malha de 2 mm e homogeneizado.

O solo foi dividido em três partes, nas quais foram adicionadas doses de calcário equivalentes a 0,0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹ de CaCO₃ (PRNT 100%). Posteriormente, o solo foi incubado por 40 dias. O calcário aplicado era composto por uma mistura de CaCO₃ e MgCO₃ (reagentes PA), ambos Synth[®], com proporção para manter a relação Ca:Mg de 2:1. Cada uma das três partes de solo foi novamente separada em duas: a primeira foi mantida sem a aplicação de Cu, e a segunda recebeu a aplicação de 50 mg kg⁻¹ de Cu na forma de CuSO₄.5H₂O (reagente PA Synth[®]). As amostras de solo foram incubadas novamente por 30 dias. Nas duas incubações, o solo foi mantido com água a 70% da capacidade de

campo. Após o preparo, o solo foi dividido em duas porções: uma porção para a condução do experimento e outra para as análises de caracterização química e granulométrica, apresentadas na Tabela 1.

2.2.2. Obtenção do material vegetal

Sementes de aveia preta foram dispostas entre papéis filtro umedecidos com água destilada em gerbox transparentes e levadas para estufa de germinação a 20 °C, seguindo recomendação de Brasil (2009). A germinação das sementes foi acompanhada diariamente por três dias, período para a emissão de raiz primária com, aproximadamente, um centímetro de comprimento. Então, as sementes pré-germinadas foram retiradas da estufa para posterior semeadura no solo.

2.2.3. Condução experimental

O experimento foi conduzido em ambiente controlado (fitotron) com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz dia^{-1} , com radiação fotossinteticamente ativa de $200 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

As unidades experimentais foram compostas por recipientes do tipo rhizobox de dimensões 20 cm x 32 cm x 4 cm (largura x altura x profundidade), construídos em madeira e com as faces internas revestidas com placas de acrílico para evitar o contato do solo e das raízes das plantas com a madeira. A face de acrílico posicionada para cima foi coberta com papel alumínio e as duas faces do recipiente foram envoltas com um plástico de cor preta, para evitar a incidência de luz no interior do solo. Os rhizobox foram dispostos sobre bancada com inclinação aproximada de 30° para possibilitar o crescimento das raízes em direção à

face de acrílico, permitindo a sua visualização mediante a retirada do plástico que revolia o recipiente.

Em cada unidade experimental foram adicionados 1,2 kg de solo, onde foram semeadas oito sementes de aveia preta pré-germinadas. Uma semana após a semeadura foi feito o raleio, mantendo-se cinco plantas por rhizobox.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com seis repetições em arranjo fatorial 2 x 3, sendo duas concentrações de Cu aplicadas ao solo (0 e 50 mg kg⁻¹) e três doses de calcário (0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹), totalizando seis tratamentos.

As plantas foram cultivadas por um período de 30 dias. Ao longo do cultivo, foi aplicada a solução de Hoagland & Arnon (1950), modificada (sem Cu, Ca e Mg), adicionada parceladamente em seis vezes, nos dias 2, 6, 11, 16, 20 e 25. Ao todo, foram adicionados, por kg de solo: 7,9 mg kg⁻¹ de N; 1,2 mg kg⁻¹ de P; 8,8 mg kg⁻¹ de K; 2,5 mg kg⁻¹ de S; 2,7 mg kg⁻¹ de Cl; 187,6 µg kg⁻¹ de Fe; 109,3 µg kg⁻¹ de Na; 18,5 µg kg⁻¹ de B; 18,8 µg kg⁻¹ de Mn; 1,9 µg kg⁻¹ de Zn e 0,1 µg kg⁻¹ de Mo. Além disso, a umidade do solo foi monitorada diariamente e, quando necessário, foi realizada a irrigação.

2.2.4. Amostragem do material vegetal

Ao final do período de cultivo foi determinada a altura das plantas usando régua graduada. Posteriormente, a parte aérea das plantas foi cortada rente à superfície do solo, e as raízes foram separadas do solo manualmente e lavadas com água destilada. Na sequência, a massa fresca (MF) da parte aérea e das raízes foi determinada em balança de precisão.

O material vegetal das cinco plantas de uma mesma unidade experimental foi misturado e, posteriormente, reservado para as análises. Para a determinação de clorofilas *a*, *b* e total e carotenoides, uma porção de 100 mg de MF da parte aérea foi coletada e logo em seguida analisada, e para a determinação de carboidratos solúveis totais e amido total, outra porção de 500 mg de MF da parte aérea foi reservada e armazenada em freezer a -20 °C até o momento da análise. O restante da MF da parte aérea e a MF total das raízes foi seco em estufa com ar forçado a 65°C até atingir massa constante para a determinação da produção de matéria seca (MS) em balança de precisão. O material moído foi reservado para posterior determinação dos teores totais de N, P, K, Ca, Mg, Cu e Fe nos tecidos vegetais.

2.2.5. Análises de nutrientes nos tecidos vegetais

Para a determinação dos teores de N, P e K nas raízes e na parte aérea foi realizada a digestão sulfúrica do material, utilizando as metodologias descritas por Tedesco et al. (1995). Para a determinação dos teores de Ca, Mg, Cu e Fe foi realizada a digestão em forno mufla a 500-550 °C por três horas, com posterior diluição em HNO₃ (1 mol L⁻¹) (Embrapa, 1997). O acúmulo dos nutrientes em cada parte da planta foi calculado pela multiplicação do teor de cada nutriente pela MS de cada parte.

2.2.6. Análises de pigmentos fotossintéticos e açúcares

A extração de clorofila e carotenoides nas folhas foi realizada com dimetilsulfóxido (DMSO) em banho-maria a 65 °C por duas horas, sem maceração do material, e com determinação por meio de espectro-

fotometria (Hiscox & Israelstam, 1979). Os cálculos para a determinação da concentração das clorofilas *a*, *b* e total e de carotenoides foram realizados utilizando as fórmulas de Wellburn (1994).

A quantificação dos carboidratos solúveis totais foi realizada pelo método fenol-sulfúrico, com glucose como padrão (Dubois et al., 1956). Para a determinação do teor de amido total nas folhas, o precipitado resultante da extração dos carboidratos solúveis totais foi submetido à solubilização do amido com ácido perclórico (McCready et al., 1950) e quantificado pelo método fenol-sulfúrico, utilizando-se glucose como padrão (Dubois et al., 1956).

2.2.7. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de Cochran para verificar a homocedasticidade. Posteriormente, realizou-se a análise de variância e, quando houve significância, aplicou-se o teste de separação de médias de Tukey ($p < 0,05$). Além disso, foi realizada a análise de correlação linear de Pearson entre as variáveis obtidas, apresentadas em alguns momentos no texto da discussão quando foram significativas.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Matéria seca e altura das plantas

A MS de raízes e a altura das plantas foram influenciadas significativamente pela interação das fontes de variação doses de Cu e doses de calcário aplicadas (Tabela 2). A adição de 50 mg kg^{-1} de Cu no solo reduziu o crescimento das raízes, mesmo com a aplicação de calcário (Tabela 3). Quando foram aplicados $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário, a redução na MS de raízes foi de 50%, em média; e quando foram adicionados $3,0$

Mg ha⁻¹ de calcário, a redução foi de 43% (Tabela 3). No entanto, o efeito do Cu foi mais acentuado nas plantas cultivadas sem a calagem, que apresentaram degeneração da raiz primária (já emergida no momento da semeadura) durante o cultivo e, por isso, a produção de MS de raízes ao final do experimento teve valor 0 (zero).

A adição de Cu inibiu o crescimento das plantas, principalmente quando não se realizou a calagem, tratamento no qual houve redução de 54% na altura das plantas, em média (Tabela 3). Quando foram aplicados 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário, a redução da altura das plantas foi de 24%, e com 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, a redução foi de 21% (Tabela 3). Apesar de a calagem ter minimizado os efeitos do Cu sobre o crescimento aveia preta, a altura das plantas foi sempre menor nos tratamentos com adição de Cu no solo, independente da dose de calcário aplicada.

Para a MS da parte aérea, não houve efeito de interação significativa entre os fatores Cu e calagem (Tabela 2). A adição de Cu ao solo sem a calagem reduziu a MS de parte aérea em 70% (Tabela 3). Quando foram aplicados 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário, a adição de Cu reduziu a MS de parte aérea em 50%, em média, e quando foram adicionados 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, a adição de Cu reduziu a MS em 58% (Tabela 3).

2.3.2. Teor e acúmulo de nutrientes nas raízes

Com a degeneração da raiz primária e sem a formação de raízes adventícias pelas plantas de aveia preta expostas ao tratamento com Cu e sem calagem, não foi possível determinar o teor e o acúmulo dos nutrientes nas raízes, apresentando, portanto, o valor 0 (zero) (Figura 1).

O teor e o acúmulo de Cu nas raízes foram maiores nos tratamentos com adição do Cu no solo, exceto no tratamento com adição de

Cu e sem a adição de calcário, no qual houve a degeneração das raízes das plantas (Figuras 1a e 1b). Quando foram aplicados $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário no solo, a adição de Cu no solo incrementou, em média, o teor do metal nas raízes em 26 vezes e o seu acúmulo nas raízes em 14 vezes, enquanto que a aplicação de $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário no solo promoveu o incremento no teor do metal nas raízes em 11 vezes e o acúmulo em pouco mais de cinco vezes.

Para os teores de N, P e K nas raízes, houve interação significativa entre a calagem e as doses de Cu (Tabela 2). Mas isso aconteceu, principalmente, pela degeneração das raízes no tratamento com adição de Cu e sem adição de calcário. Por consequência, também, não foi possível comparar os tratamentos com e sem adição de Cu quando não houve a calagem. Quando houve a calagem, o fator Cu apresentou efeito significativo apenas para o teor de N. Neste caso, quando foram aplicados $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário, o teor de N foi superior no tratamento com adição do metal no solo, e quando foram aplicados $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário não houve diferença para adição de Cu (Figura 1c). Para os teores de P e K, não houve diferença para os fatores Cu e calagem (Figuras 1e e 1g).

No que se refere à quantidade de N, P e K acumulados nas raízes, não foi observada interação significativa entre os fatores Cu e calagem (Tabela 2). Neste caso, o acúmulo dos nutrientes nas raízes cultivadas em solo com adição de Cu foi sempre menor que naquelas cultivadas sem a adição do Cu (Figuras 1d e 1f). Em média, a redução no acúmulo de N, P e K nas raízes expostas ao Cu foi de 42, 56 e 56%, respectivamente. Além disso, independentemente do fator Cu, houve incre-

mento no acúmulo de N nas raízes com a adição das duas doses de calcário e no acúmulo de P apenas com a adição de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário.

O Ca e o Mg nas raízes se comportaram de maneira semelhante: tanto os teores quanto o acúmulo desses nutrientes apresentaram efeito de interação (Tabela 2). Quando não foi aplicado calcário, não foi possível comparar os tratamentos com e sem adição de Cu por causa da degeneração das raízes nas plantas expostas ao metal. Com a aplicação de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário, os maiores teores de Ca e Mg foram observados nas raízes do tratamento com a adição de Cu; e com a aplicação de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, o fator Cu não foi significativo (Figuras 1i e 1k). No que se refere ao fator calagem, os teores dos dois nutrientes foram incrementados nas raízes com a adição de calcário, especialmente com a dose de 3,0 Mg ha⁻¹ e nas plantas cultivadas em solo sem a adição de Cu. Em relação ao acúmulo de Ca e de Mg nas raízes, quando foram aplicados 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário não houve efeito do Cu, e quando foram aplicados 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário houve redução de 40 e 41%, respectivamente, no acúmulo de Ca e Mg nas raízes das plantas cultivadas com a adição de Cu no solo comparadas às sem adição (Figuras 1j e 1l).

O teor e o acúmulo de Fe nas raízes de aveia preta também apresentaram interação significativa (Tabela 2). O teor do elemento nos tratamentos sem adição de Cu não apresentou diferença significativa, com média de 666,1 mg kg⁻¹; mas quando foi adicionado Cu no solo, o aumento da dose de calcário de 1,5 para 3,0 Mg ha⁻¹ incrementou o teor de Fe nas raízes em 139% (Figura 1m). Embora o valor de Fe acumulado não tenha sofrido efeito da calagem nos tratamentos sem adição de Cu, nas plantas cultivadas em solo com adição de Cu, o aumento da do-

se de calcário de 1,5 para 3,0 Mg ha⁻¹ aumentou em 78% o acúmulo de Fe nas raízes (Figura 1n).

2.3.3. Teor e acúmulo de nutrientes na parte aérea

O teor de Cu na parte aérea das plantas foi mais elevado naquelas cultivadas em solo com a adição do metal, independente da dose de calcário aplicada (Figura 2a). As plantas expostas à adição de Cu no solo apresentaram incremento de 156%, em média, no teor de Cu na parte aérea. Comparando apenas os tratamentos com a adição de Cu no solo, a calagem reduziu o teor do metal na parte aérea da aveia preta, sendo que a aplicação de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário reduziu em 54% o teor de Cu na parte aérea em relação ao tratamento sem calagem, e a aplicação de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário promoveu a redução no teor de Cu na parte aérea em 59% em relação ao tratamento sem adição de calcário (Figura 2a). Apesar disso, o valor de Cu acumulado na parte aérea não sofreu efeito significativo nem do fator Cu nem do fator calagem (Figura 2b).

Os teores de N e de K na parte aérea foram, respectivamente, 38% e 64% maiores, em média, nas plantas cultivadas no solo sem a adição de Cu. Apesar disso, nas plantas cultivadas com a adição do Cu no solo, a aplicação de calcário proporcionou aumento dos teores de N e de K (Figura 2c e 2g). Neste caso, quando foram aplicados 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário, houve um aumento de 33% no teor de N e de 162% no teor de K na parte aérea em relação ao tratamento sem calagem, e quando foram aplicados 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, o aumento no teor de N foi de 26% e no teor de K foi de 149% em relação ao tratamento sem adição de calcário no solo.

Para o acúmulo de N e K na parte aérea não ocorreu interação significativa (Tabela 2). A adição de Cu no solo reduziu, em média, o acúmulo de N em 70% e o acúmulo de K em 73% na parte aérea (Figura 2c e 2h). No entanto, com a adição de calcário no solo, houve incremento da quantidade acumulada desses nutrientes. Com a aplicação de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário no tratamento com adição de Cu, o acúmulo de N na parte aérea foi incrementado em 140% e o acúmulo de K em 376% em relação ao tratamento sem calagem; e com a dose de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, o aumento no teor de N foi de 109% e no teor de K foi de 314% em relação ao tratamento sem adição de calcário no solo.

Para o P não se observou interação significativa nem para o teor nem para o acúmulo na parte aérea (Tabela 2). O teor e o acúmulo de P na parte aérea foram reduzidos pela adição de Cu, em média, 33 e 72%, respectivamente (Figuras 2e e 2f). A aplicação de calcário não afetou o teor do nutriente, mas incrementou a sua quantidade acumulada na parte aérea. Nos tratamentos com adição de Cu, a aplicação de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário aumentou em 60% o acúmulo do nutriente em relação ao tratamento sem calagem, e quando foram aplicados 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, o acúmulo de P aumentou em 80%.

Os teores de Ca e Mg na parte aérea apresentaram efeito de interação, mas para o acúmulo de ambos houve efeito apenas do fator Cu (Tabela 2). Quando foi aplicada a dose de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, não houve diferença nos teores de Ca para o fator Cu; mas para as duas menores doses de calcário, o teor de Ca na parte aérea foi mais elevado quando houve a aplicação de Cu no solo. Nos tratamentos sem a calagem, a adição de Cu no solo proporcionou aumento de 45% no teor de Ca na parte aérea; e quando foram aplicados 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário, o

aumento no teor de Ca pela adição de Cu no solo foi de 25% (Figura 2i). Para o Mg somente ocorreu efeito do fator Cu quando não se realizou a calagem e, neste caso, o teor do nutriente na parte aérea foi incrementado em 31% nas plantas cultivadas em solo com adição de Cu (Figura 2k). Além disso, houve efeito da calagem sobre os teores de Ca e Mg na parte aérea das plantas, mas somente naquelas submetidas à adição de Cu no solo, que apresentaram maiores teores dos dois nutrientes quando não houve calagem (Figuras 2i e 2k). No que se refere à quantidade acumulada de Ca e Mg, verificou-se somente efeito do fator Cu, que provocou a redução no acúmulo de Ca em 52% e de Mg em 57% na parte aérea da aveia preta (Figuras 2j e 2l).

Para o teor e o acúmulo de Fe na parte aérea houve somente efeito do fator Cu (Tabela 2). Com a adição do Cu no solo, o teor de Fe na parte aérea foi reduzido em 57% e o seu acúmulo em 83% (Figuras 2m e 2n).

2.3.4. Pigmentos fotossintéticos e açúcares

As concentrações de clorofilas *a* e total nas folhas de aveia preta foram reduzidas em 18% cada uma nas plantas cultivadas em solo com a adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu, mas não sofreram efeito da aplicação de calcário (Tabela 4). Por outro lado, as concentrações de clorofila *b* e de carotenoides não sofreram efeito significativo da adição de Cu e da calagem.

Para os teores de carboidratos solúveis totais e amido total nas folhas de aveia preta, houve efeito significativo apenas do fator Cu (Tabela 2). Nas plantas cultivadas em solo com a adição do metal, o teor de

carboidratos solúveis totais nas folhas aumentou em 17% e o teor de amido total foi incrementado em 28% (Tabela 4).

2.4. DISCUSSÃO

2.4.1. Matéria seca e altura das plantas

Os efeitos negativos do excesso de Cu sobre a aveia preta são comprovados pela correlação negativa do teor de Cu da parte aérea com a MS de raízes ($r = -0,94^{**}$), com a MS da parte aérea ($r = -0,84^*$) e com a altura das plantas ($r = -0,98^*$). A redução da MS de raízes é uma consequência do excesso de Cu, que também causa má formação, inibição do comprimento e alterações em nível celular, como a desintegração de células epidérmicas e plasmólise de células do córtex (Chen et al., 2013; Juang et al., 2012; 2014). Como consequência, a absorção de água e nutrientes é prejudicada, refletindo em redução da MS da parte aérea das plantas (Kopittke et al., 2009).

A calagem promoveu a redução da toxidez pelo excesso de Cu, possivelmente pelo aumento do pH e da capacidade de troca de cátions (CTC) do solo, e do incremento dos teores de Ca e Mg trocáveis no solo. Com o aumento do pH, ocorre um aumento da concentração de OH^- no solo e, com isto, o Cu pode precipitar na forma de hidróxido (Agbenin & Olojo, 2004). Além disso, ocorre a desprotonação de H^+ , que, por sua vez, promove o aumento da CTC e pode aumentar a adsorção de Cu, reduzindo a sua disponibilidade às plantas (Joris et al., 2012). O aumento do pH do solo pela calagem também promove maior disponibilidade de P às plantas, condição importante para amenizar os efeitos de metais pela formação de compostos com ligação metal-fosfato nas raízes, que

são pouco móveis na planta, diminuindo o transporte do Cu das raízes até a parte aérea (Soares & Siqueira, 2008).

O aumento dos teores de Ca e Mg trocáveis no solo pela calagem também pode ter contribuído para amenizar a toxidez de Cu à aveia preta porque esses elementos competem com os íons de Cu livres no solo pela adsorção na superfície das raízes e, por consequência, reduzem a absorção do elemento-traço (Luo et al., 2008; Kopittke et al., 2011), e também o seu transporte das raízes para a parte aérea (Chen et al., 2013; Juang et al., 2014). Além disso, o incremento do teor de Ca e de Mg no interior da planta promove o reforço da parede celular das células epidérmicas, pois estes nutrientes são constituintes da pectina presente na lamela média (Hawkesford et al., 2012), reduzindo os efeitos tóxicos do Cu sobre a anatomia de raízes (Chen et al., 2013); e o incremento no teor de Mg nos tecidos da parte aérea auxilia na manutenção da taxa fotossintética, pois proporciona maior competição do nutriente com o Cu, que se presente em teores elevados suficientes para causar toxidez, pode substituir o Mg como íon central da molécula de clorofila (Yruela, 2009).

O efeito do excesso de Cu sobre as raízes e a parte aérea também foi constatado por Santos et al. (2004) em plantas de aveia preta cultivadas em vasos por 20 dias. Esses autores observaram a redução acentuada no crescimento de plantas submetidas à dose de 100 mg kg⁻¹ de Cu em Argissolo Acinzentado, com 21,8 g dm⁻³ de MOS e 460 g dm⁻³ de argila. Quando as plantas foram cultivadas em um Cambissolo Húmico com 61,0 g dm⁻³ de MOS e 350 g dm⁻³ de argila, o Cu não causou efeito significativo sobre o crescimento de raízes e parte aérea. Segundo os autores, neste último tipo de solo o efeito de toxidez por Cu não é ob-

servado porque o alto teor de MOS complexa o Cu e reduz a sua disponibilidade.

No presente trabalho, a dose de 50 mg kg^{-1} de Cu no solo foi suficiente para causar efeito de toxidez às plantas, corroborando com os resultados encontrados por Santos et al. (2004). A comparação dos dois experimentos denota que as plantas do presente trabalho sofreram efeito do Cu com uma dose muito mais baixa, provavelmente por causa do baixo teor de MOS no Argissolo Vermelho utilizado neste trabalho, uma vez que boa parte do metal é complexado na MOS (Brunetto et al., 2014). Portanto, o efeito da toxidez pode ser decorrente da maior disponibilidade de Cu às plantas no Argissolo Vermelho do presente trabalho, mesmo com uma menor dose aplicada no solo.

2.4.2. Teor e acúmulo de nutrientes na planta

O teor de Cu nas folhas das plantas de aveia preta cultivadas sem adição deste metal, segundo Kabata-Pendias (2011), é considerado normal para a maioria das espécies (entre 5 e 30 mg kg^{-1}). Entretanto, quando a aveia preta foi cultivada em solo com a adição de Cu, o teor médio do metal nas folhas ultrapassou esses valores, chegando a $39,1 \text{ mg kg}^{-1}$ no tratamento com $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário e a $95,7 \text{ mg kg}^{-1}$ no tratamento sem calagem, valor enquadrado na faixa de toxidez, que varia de 20 a 100 mg kg^{-1} (Kabata-Pendias, 2011).

A redução no acúmulo dos nutrientes, com exceção do Cu, nas raízes e na parte aérea das plantas de aveia preta cultivadas em solo com adição de Cu indica que o Cu prejudicou a absorção dos outros nutrientes. Isso, juntamente com o efeito tóxico do Cu sobre as raízes da aveia preta, ocasionou a redução da sua MS. A exposição ao Cu provoca uma

série de alterações nas raízes, como a inibição do alongamento das raízes, a redução do número de pelos radiculares, danos na cutícula, rachaduras, ramificação anormal e espessamento das raízes, resultando em menor absorção de água e de nutrientes pelas plantas (Sheldon & Menzies, 2005; Michaud et al., 2008; Kopittke et al., 2009; Chen et al., 2013; Juang et al., 2014).

A redução no acúmulo de N também pode ser explicada por uma alteração no metabolismo do nutriente no interior da planta. Por exemplo, Llorens et al. (2000) verificaram que a exposição das plantas de videira (*Vitis vinifera*) a níveis elevados de Cu causou redução no teor de N total e de nitrato nas raízes, além de aminoácidos totais (N na forma orgânica no interior da planta) nas raízes e na parte aérea. Constataram também o decréscimo de aminoácidos como, por exemplo, o glutamato e a glutamina, e de enzimas importantes para a assimilação de N nas plantas, como nitrato e nitrito redutase, o que afetou negativamente o metabolismo do N e reduziu o seu crescimento e desenvolvimento. Os resultados do presente trabalho corroboram com os de Llorens et al. (2000), sendo constatado pela correlação negativa entre os teores de Cu e de N na parte aérea das plantas de aveia preta ($r = -0,92^{**}$).

As plantas de aveia preta apresentaram menores teores de P na parte aérea e menor acúmulo do nutriente quando expostas ao Cu. Ke et al. (2007) relataram que plantas de *Rumex japonicus* expostas ao excesso de Cu também tiveram a absorção e o transporte do nutriente para a parte aérea reduzidos. No entanto, em plantas provenientes de sementes coletadas em população de área contaminada, o efeito causado pelo Cu foi menor, indicando que plantas oriundas de áreas contaminadas são mais tolerantes ao excesso de Cu. Em estudo com videiras, Cambrollé et

al. (2015) também reportaram que o incremento de Cu em solução nutritiva reduziu a concentração de P nas folhas das plantas, especialmente nas subespécies menos tolerantes ao Cu. Segundo Kabata-Pendias (2011), esse efeito ocorre por uma alteração na permeabilidade das membranas, provocando o vazamento de íons PO_4^{3-} pelas raízes. Possivelmente, foi isso que aconteceu com as plantas de aveia preta do presente experimento. Além disso, observou-se correlação negativa entre o teor de Cu na parte aérea e o teor de P nas raízes de aveia preta ($r = -0,90^{**}$), corroborando com Ke et al. (2007), Kabata-Pendias (2011) e Cambrollé et al. (2015).

O menor teor de K na parte aérea e o menor acúmulo do nutriente nas plantas de aveia preta cultivadas em solo com a adição de Cu pode ser decorrente da alteração na permeabilidade das membranas pelo excesso de Cu, causando o vazamento de íons K^+ pelas raízes (Kabata-Pendias, 2011). Isso ocorre porque a entrada excessiva de Cu no citosol resulta na produção de espécies reativas de oxigênio, como os radicais hidroxila, que induzem a ativação de canais de efluxo de K^+ , resultando em perda massiva de K pela célula e, consequentemente, em perdas do nutriente pela planta (Demidchik et al., 2010; Rodrigo-Moreno et al., 2012). Ademais, encontrou-se correlação negativa entre o teor do metal na parte aérea e o teor de K nas raízes ($r = -0,85^*$) e também na parte aérea ($r = -0,97^{**}$), reforçando a hipótese de perda de K pelas plantas sob estresse por Cu.

O menor acúmulo de Ca e Mg nas plantas de aveia preta, principalmente na parte aérea, submetidas à adição de Cu no solo também pode ter acontecido porque íons de mesma valência competem pelos sítios de adsorção na superfície das raízes (Luo et al., 2008; Kopittke et

al., 2011). Com essa competição, a entrada desses elementos no interior das raízes também é dificultada. Por outro lado, os teores desses nutrientes na parte aérea foram maiores com a adição de Cu no solo e com as menores doses de calcário. Provavelmente, ocorreu um efeito de diluição do Ca e do Mg nos tecidos da parte aérea das plantas não expostas ao Cu e daquelas expostas ao metal, mas com o incremento das doses de calcário, as quais apresentaram maior MS e altura (Tabela 3). A análise de correlação comprova estes resultados, pois os teores de Ca e Mg na parte aérea apresentaram correlação negativa com a altura das plantas ($r = -0,93^{**}$ e $r = -0,85^*$, respectivamente).

O teor e o acúmulo de Fe na parte aérea das plantas foram reduzidos pela exposição ao Cu. O Fe e o Cu, assim como outros elementos de mesma valência, possuem efeito de competição na absorção pelas raízes das plantas; além disso, esses dois metais são antagonistas no transporte das raízes para a parte aérea das plantas, o que pode ocasionar o decréscimo do conteúdo de Fe nos cloroplastos e provocar efeitos de deficiência por Fe quando em há excesso de Cu no solo (Michaud et al., 2008; Kopittke et al., 2009; Kabata-Pendias, 2011).

A relação de antagonismo entre Cu e Fe foi comprovada por Michaud et al. (2008) em estudo com plantas de trigo expostas ao Cu, que aumentaram a liberação de compostos fitossideróforos pelas raízes. Segundo os mesmos autores, os fitossideróforos são compostos orgânicos liberados pelas raízes de gramíneas em situação de deficiência de Fe, e o seu aumento na rizosfera de plantas com estresse por Cu comprova a relação antagônica entre Cu e Fe nas plantas.

2.4.3. Pigmentos fotossintéticos e açúcares

A redução da concentração de clorofila *a* e total nas folhas de aveia preta cultivadas em solo com adição de Cu foi causada pelo excesso do metal transportado para a parte aérea, que promoveu o aumento dos teores do Cu nas folhas até teores considerados tóxicos às plantas. A diminuição na concentração de clorofila nas folhas pode ser uma consequência da destruição da estrutura interna dos cloroplastos e a modificações na composição das membranas dos tilacoides pelo excesso do metal (Borghi et al., 2007) e também pode ser um efeito direto do Cu na cadeia de transporte de elétrons, que pode causar danos no aparato fotossintético, inibindo a fotossíntese (Cambrollé et al., 2013; 2015).

A diminuição da concentração de clorofila nas folhas das plantas expostas ao Cu também pode ser causada indiretamente pela redução dos teores de N e de Fe na parte aérea, hipótese apoiada pela correlação positiva entre os teores desses nutrientes na parte aérea e a concentração de clorofila *a* e de clorofila total ($r = 0,84^*$ e $r = 0,91^*$, respectivamente, para N e Fe). O N atua na síntese da clorofila e é constituinte da sua molécula (Li et al., 2013), e o Fe atua na cadeia de transporte de elétrons e na biossíntese da clorofila (Broadley et al., 2012). Portanto, a redução desses dois nutrientes pelo efeito de toxidez do Cu pode ser uma das causas para a redução da concentração de clorofila nas folhas de aveia preta.

O incremento nos teores de carboidratos solúveis totais e de amido total nas folhas de aveia preta expostas ao Cu é um indicativo de que houve redução da demanda de energia pelas plantas (Alaoui-Sossé et al., 2004). Com o possível decréscimo da taxa fotossintética das plantas expostas ao alto teor de Cu no solo, o crescimento das plantas é

reduzido e, conseqüentemente, a demanda por energia também diminui. Como resultado, ocorre o acúmulo de carboidratos e de amido nas folhas das plantas (Alaoui-Sossé et al., 2004), alterando o padrão de distribuição dos fotoassimilados, como observado nos resultados deste estudo. Este efeito pode estar relacionado à disponibilidade de alguns nutrientes no metabolismo vegetal, constatado pela correlação linear negativa entre o teor de amido total e os teores de Fe ($r = -0,88^*$) e de P ($r = -0,89^*$) na parte aérea. O Fe atua na cadeia de transporte de elétrons e na biossíntese da clorofila (Broadley et al., 2012), como já mencionado anteriormente; e o baixo teor de P nas folhas, por sua vez, pode inibir a fotossíntese quase completamente (Hawkesford et al., 2012).

2.5. CONCLUSÕES

A dose de 50 mg kg⁻¹ de Cu no solo causa efeito tóxico sobre o crescimento e o desenvolvimento das plantas de aveia preta, afetando a distribuição interna dos nutrientes, reduzindo a concentração de clorofila nas folhas e aumentando os teores de carboidratos solúveis totais e amido total nas folhas.

O incremento das doses de calcário ameniza os efeitos tóxicos do Cu pela redução da sua absorção e pela melhor distribuição dos outros nutrientes no interior das plantas de aveia preta, ocasionando maior crescimento e produção de matéria seca.

2.6. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), projeto nº 1971-2551/13-2, e ao Conselho Nacional de

Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), projeto nº 473376/2013-0, pelo financiamento do trabalho.

2.7. REFERÊNCIAS

AGBENIN, J.O.; OLOJO, L.A. Competitive adsorption of copper and zinc by a Bt horizon of a savanna Alfisol as affected by pH and selective removal of hydrous oxides and organic matter. **Geoderma**, v.119, p.85-95, 2004.

ALAOUI-SOSSÉ, B.; GENET, P.; VINIT-DUNAND, F.; TOUS-SAINT, M.L.; EPRON, D.; BADOT, P.M. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. **Plant Science**, v.166, p.1213-1218, 2004.

BORGHI, M.; TOGNETTI, R.; MONTEFORTI, G.; SEBASTIANI, L. Responses of *Populus x euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*) clone Adda to increasing copper concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v.61, p.66-73, 2007.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária: Brasília, 2009. 399p.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. In: MARSCHNER, P. **Mar-**

schner's mineral nutrition of higher plants (third edition). Londres: Academic Press, 2012. p.191-248.

BRUNETTO, G; MIOTTO, A; CERETTA, C.A.; SCHMITT, D.E.; HEINZEN, J.; MORAES, M.P.; CANTON, L.; TIECHER, T.L.; COMIN, J.J.; GIROTTO, E. Mobility of copper and zinc fractions in fungicide amended vineyard sandy soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.60, p.609-624, 2014.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J.L.; OCETE, R.; FIGUEROA, M.E.; CANTOS, M. Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. **Chemosphere**, v.93, p.294-301, 2013.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J.L.; FIGUEROA, M.E.; CANTOS, M. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v.120, p.171-178, 2015.

CHAIGNON, V.; HINSINGER, P.A biotest for evaluating copper bio-availability to plants in a contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, v.32, p.824-833, 2003.

CHEN, P.Y.; LEE, Y.I.; CHEN, B.C.; JUANG, K.W. Effects of calcium on rhizotoxicity and the accumulation and translocation of copper by grapevines. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p.375-382, 2013.

COUTO, R.R.; BENEDET, L.; COMIN, J.J.; BELLI FILHO, P.; MARTINS, S.R.; GATIBONI, L.C.; RADETSKI, M.; VALOIS, C. M.; AMBROSINI, V.G.; BRUNETTO, G. Accumulation of copper and zinc fractions in vineyard soil in the mid-western region of Santa Catarina, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, 2015.

DALLA ROSA, J.; MAFRA, A.L.; NOHATTO, M.A.; FERREIRA, E.Z.; OLIVEIRA, O.L.P.; MIQUELLUTI, D.J.; CASSOL, P.C.; MEDEIROS, J.C. Atributos químicos do solo e produtividade de videiras alterados pelo manejo de coberturas verdes na Serra Gaúcha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.179-187, 2009.

DEMIDCHIK, V.; CUIN, T.A.; SVISTUNENKO, D.; SMITH, S.J.; MILLER, A.J.; SHABALA, S.; SOKOLIK, A.; YURIN, V. Arabidopsis root K^+ -efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death. **Journal of Cell Science**, v.123, p.1468-1479, 2010.

DUBOIS, M; GILLEWS, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBER, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p. 350-356, 1956.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CPNS, 1997. 212p.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 ed. Embrapa: Brasília, 2013. 353p.

HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MOLLER, I. S.; WHITE, P. Functions of macronutrients. In: MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)**. London: Academic Press, 2012. p.135-189.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v.57, p.1332–1334, 1979.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.T. **The water culture method for growth plants without soil**. California Agriculture Experiment Station: Berkeley, 1950. 32p. (University of California, Circular 347).

JORIS, H.A.W.; FONSECA, A.F.; ASAMI, V.Y.; BRIEDIS, C.; BORSZOWSKI, P.R.; GARBUIO, F.J. Adsorção de metais pesados após calagem superficial em um Latossolo Vermelho sob sistema de plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.43, p.1-10, 2012.

JUANG, K.W.; LEE, Y.I.; LAI, H.Y.; WANG, C.H.; CHEN, B.C. Copper accumulation, translocation, and toxic effects in grapevine cuttings. **Environmental Science and Pollution Research**, v.19, p.1315–1322, 2012.

JUANG, K.W.; LEE, Y.I.; LAI, H.Y.; CHEN, B.O. Influence of magnesium on copper phytotoxicity to and accumulation and translocation in grapevines. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.104, p.36-42, 2014.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4 ed. CRC Press: Boca Raton. 2011. 505p.

KAMINSKI, J.; SILVA, L.S.; CERETTA, C.A.; RHEINHEIMER, D.S. Acidez e calagem em solos do Sul do Brasil: Aspectos históricos e perspectivas futuras. In: CERETTA, C.A.; SILVA, L.S.; REICHERT, J.M. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.307-332.

KE, W.; XIONG, Z.T.; CHEN, S.; CHEN, J. Effects of copper and mineral nutrition on growth, copper accumulation and mineral element uptake in two *Rumex japonicus* populations from a copper mine and an uncontaminated field sites. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.59-67, 2007.

KOPITTKE, P.M.; ASHER, C.J.; BLAMEY, F.P.C.; MENZIES, N.W. Toxic effects of Cu^{2+} on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the Total Environment**, v.407, p.4616-4621, 2009.

KOPITTKE, P.M.; KINRAIDE, T.B.; WANG, P.; BLAMEY, F.P.C.; REICHMAN, S.M.; MENZIES, M.W. Alleviation of Cu and Pb rhizo-

toxicities in cowpea (*Vigna unguiculata*) as related to ion activities at root-cell plasma membrane surface. **Environmental Science & Technology**, v.45, p.4966-4973, 2011.

LI, S. X.; WANG, Z. H.; STEWART, B. A. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. **Advances in Agronomy**, v.118, p.205-397, 2013.

LLORENS, N.; AROLA, L.; BLADÉ, C.; MAS, A. Effects of copper exposure upon nitrogen metabolism in tissue cultured *Vitis vinifera*. **Plant Science**, v.160, p.159–163, 2000.

LUO, X.S.; LI, L.Z.; ZHOU, D.M. Effect of cations on copper toxicity to wheat root: Implications for the biotic ligand model. **Chemosphere**, v.73, p.401-406, 2008.

MCCREADY, R.M., GUGGOLZ, J., SILVIERA, V.; OWENS, H.S. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. **Analytical Chemistry**, v.22, p.1156-1158, 1950.

MICHAUD, A.M.; CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). **Plant and Soil**, v.310, p.151-165, 2008.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.H.M.; HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy met-

als by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.51, p.47–58, 1993.

RODRIGO-MORENO, A.; ANDRÉS-COLÁS, N.; POSCHENRIEDER, C.; GUNSÉ, B.; PEÑARRUBIA, L.; SHABALA, S. Calcium- and potassium-permeable plasma membrane transporters are activated by copper in Arabidopsis root tips: linking copper transport with cytosolic hydroxyl radical productionpce. **Plant, Cell and Environment**, v.36, p.844–855, 2012.

SANTOS, H.P.; MELO, G.W.B.; LUZ, N.B.; TOMASI, R.J. **Comportamento fisiológico de plantas de aveia (*Avena strigosa*) em solos com excesso de cobre**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 8p. 2004. (Comunicado Técnico, 49).

SHELDON, A.R.; MENZIES, N.W. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. **Plant and Soil**, v.278, p.341-349, 2005.

SOARES, C.R.F.S.; SIQUEIRA, J.O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.44, p.833-841, 2008.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

WELLBURN, A.R. The Spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p.307–313, 1994.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v.36, p.409–430, 2009.

Tabela 1. Atributos químicos e granulométricos do Argissolo Vermelho utilizado no cultivo de aveia preta (*Avena strigosa*) com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Atributos	Cu0 Lim0,0	Cu0 Lim1,5	Cu0 Lim3,0	Cu50 Lim0,0	Cu50 Lim1,5	Cu50 Lim3,0
----- Antes do cultivo -----						
Areia (g kg ⁻¹) ⁽¹⁾	909	909	909	909	909	909
Silte (g kg ⁻¹) ⁽¹⁾	30	30	30	30	30	30
Argila (g kg ⁻¹) ⁽¹⁾	61	61	61	61	61	61
C-org total (g kg ⁻¹) ⁽²⁾	5,1	4,5	4,9	5,6	5,6	5,4
MOS (g kg ⁻¹) ⁽²⁾	8,8	7,7	8,5	9,6	9,6	9,4
pH em água ⁽²⁾	4,5	5,6	6,4	4,4	5,4	6,1
P disponível (mg kg ⁻¹) ⁽³⁾	4,8	4,3	5,7	5,1	4,6	6,4
K trocável (mg kg ⁻¹) ⁽³⁾	30,7	26,9	29,2	34,5	32,1	33,3
Al trocável (cmol _c kg ⁻¹) ⁽⁴⁾	3,1	0,0	0,0	4,1	1,1	0,0
Ca trocável (cmol _c kg ⁻¹) ⁽⁴⁾	2,0	2,5	4,4	2,3	2,6	4,2
Mg trocável (cmol _c kg ⁻¹) ⁽⁴⁾	1,8	1,8	2,3	1,8	2,6	2,7
Cu (extraído por ED-TA) (mg kg ⁻¹) ⁽⁵⁾	2,4	2,4	2,2	23,0	23,2	21,5
Cu (extraído por CaCl ₂) (mg kg ⁻¹) ⁽⁶⁾	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
----- Depois do cultivo -----						
Cu (extraído por ED-TA) (mg kg ⁻¹) ⁽⁵⁾	2,0	2,3	2,6	38,6	38,8	38,1
Cu (extraído por CaCl ₂) (mg kg ⁻¹) ⁽⁶⁾	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Cu0 Lim0,0 – sem adição de Cu e sem calcário; Cu0 Lim1,5 – sem adição de Cu e com 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu0 Lim3,0 – sem adição de Cu e com 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu50 Lim0,0 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e sem calcário; Cu50 Lim1,5 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu50 Lim3,0 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário. ⁽¹⁾Método da pipeta (Embrapa, 1997); ⁽²⁾Determinado conforme Tedesco et al. (1995); ⁽³⁾Extraídos pelo extrator de Mehlich 1 (Tedesco et al., 1995); ⁽⁴⁾Extraídos pelo extrator KCl 1 mol L⁻¹ (Tedesco et al., 1995); ⁽⁵⁾Extraído por Na₂-EDTA 0,05 mol L⁻¹/acetato de amônio 1,0 mol L⁻¹, pH 6,0 (Chaignon & Hinsinger, 2003); ⁽⁶⁾Extraído por CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (Novozamsky et al., 1993).

Tabela 2. Valores de F e coeficientes de variação calculados na análise de variância para todas as variáveis analisadas em aveia preta (*Avena sativa*) cultivada em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Variável	Valores de F			CV (%)
	Cu (A)	Calagem (B)	A x B	
MS de raízes	67,88**	6,14**	5,80**	31,20
MS de parte aérea	209,93**	17,80**	1,52 ^{ns}	13,14
Altura da planta	472,36**	63,99**	44,95**	4,91
Teor de Cu nas raízes	1706,72**	503,07**	567,01**	8,31
Teor de N nas raízes	0,89 ^{ns}	36,56**	22,44**	19,05
Teor de P nas raízes	18,59**	37,61**	35,02**	14,93
Teor de K nas raízes	12,90**	54,31**	41,49**	13,57
Teor de Ca nas raízes	3,26 ^{ns}	57,49**	35,19**	16,22
Teor de Mg nas raízes	4,43 ^{ns}	82,30**	90,19**	11,57
Teor de Fe nas raízes	1,92 ^{ns}	79,63**	68,27**	14,52
Teor de Cu na parte aérea	127,69**	29,63**	33,70**	16,52
Teor de N na parte aérea	309,40**	11,83**	18,86**	3,85
Teor de P na parte aérea	75,28**	2,52 ^{ns}	0,84 ^{ns}	9,40
Teor de K na parte aérea	351,87**	64,43**	51,94**	5,48
Teor de Ca na parte aérea	33,56**	19,34**	10,72**	7,76
Teor de Mg na parte aérea	9,54*	14,60**	8,44**	7,28
Teor de Fe na parte aérea	213,00**	1,32 ^{ns}	3,25 ^{ns}	11,61
Cu acumulado nas raízes	86,35**	30,70**	36,89**	32,03
N acumulado nas raízes	21,67**	17,48**	3,56 ^{ns}	26,42
P acumulado nas raízes	21,14**	5,57*	1,79 ^{ns}	36,73
K acumulado nas raízes	24,26**	5,24*	2,99 ^{ns}	30,03
Ca acumulado nas raízes	20,06**	10,57**	5,79*	28,13
Mg acumulado nas raízes	20,05**	7,52*	8,14**	29,34
Fe acumulado nas raízes	26,79**	8,82**	8,10**	27,15
Cu acumulado na parte aérea	0,47 ^{ns}	1,65 ^{ns}	3,43 ^{ns}	17,90
N acumulado na parte aérea	320,82**	7,20*	3,57 ^{ns}	12,67
P acumulado na parte aérea	786,95**	21,36**	2,44 ^{ns}	8,57
K acumulado na parte aérea	464,72**	15,59**	3,00 ^{ns}	11,29
Ca acumulado na parte aérea	57,65**	0,53 ^{ns}	2,10 ^{ns}	19,52
Mg acumulado na parte aérea	144,70**	1,35 ^{ns}	0,82 ^{ns}	13,77
Fe acumulado na parte aérea	134,02**	0,96 ^{ns}	1,73 ^{ns}	25,72
Clorofila <i>a</i>	9,34*	0,57 ^{ns}	1,42 ^{ns}	13,62
Clorofila <i>b</i>	4,34 ^{ns}	0,30 ^{ns}	0,99 ^{ns}	21,19
Clorofila total	9,48*	0,59 ^{ns}	1,61 ^{ns}	13,73
Carotenoides	1,17 ^{ns}	1,78 ^{ns}	0,59 ^{ns}	14,96
Carboidratos solúveis totais	31,62**	27,16**	1,44 ^{ns}	5,94
Amido total	54,81**	2,83 ^{ns}	3,94 ^{ns}	7,08

* = Significativo pelo teste F ($p < 0,05$); ** = Significativo pelo teste F ($p < 0,01$); ns = não significativo.

Tabela 3. Matéria seca de raízes e de parte aérea, e altura de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivada em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Cu	Dose de calcário (Mg ha ⁻¹)			Média
(mg kg ⁻¹)	0,0	1,5	3,0	
----- Matéria seca de raízes (g) -----				
0	0,076 aA ⁽¹⁾	0,084 aA	0,069 aA	0,076 A
50	0,000 bB	0,042 aB	0,040 aB	0,027 B
Média	0,038 b	0,063 a	0,055 ab	
----- Matéria seca de parte aérea (g) -----				
0	0,090 ^{ins}	0,104	0,116	0,103 A
50	0,027	0,052	0,050	0,043 B
Média	0,059 b	0,078 a	0,083 a	
----- Altura (cm) -----				
0	37,0 aA	37,7 aA	38,4 aA	37,7 A
50	17,1 bB	28,8 aB	30,3 aB	25,4 B
Média	27,1 b	33,3 a	34,4 a	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letras maiúscula na coluna e pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05); ins = interação não significativa.

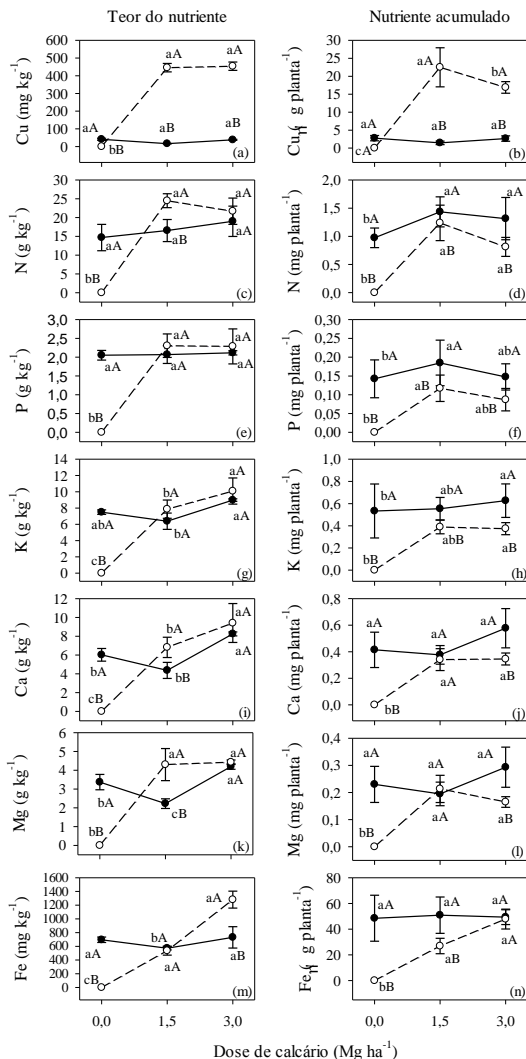


Figura 1. Teores (a, c, e, g, i, k, m – respectivamente) e acúmulo (b, d, f, h, j, l, n – respectivamente) de Cu, N, P, K, Ca, Mg e Fe em raízes de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivada em solo com e sem adição de Cu e com doses de calcário.

Linha contínua: sem adição de Cu; linha tracejada: com adição de Cu. Médias seguidas pela mesma letras maiúscula (fator Cu) e pela mesma letra minúscula (fator calagem) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais correspondem ao desvio padrão.

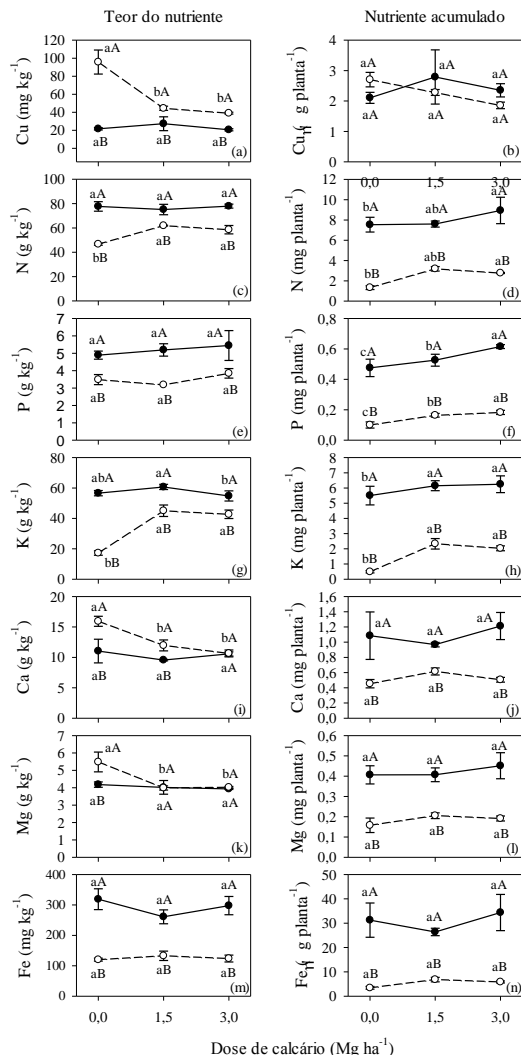


Figura 2. Teores (a, c, e, g, i, k, m – respectivamente) e acúmulo (b, d, f, h, j, l, n – respectivamente) de Cu, N, P, K, Ca, Mg e Fe na parte aérea de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivada em solo com e sem adição de Cu e com doses de cálcio.

Linha contínua: sem adição de Cu; linha tracejada: com adição de Cu. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (fator Cu) e pela mesma letra minúscula (fator calagem) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais correspondem ao desvio padrão.

Tabela 4. Clorofilas *a*, *b* e total, carotenoides, carboidratos solúveis totais e amido total nas folhas de aveia preta (*Avena strigosa*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Cu (mg kg ⁻¹)	Dose de calcário (Mg ha ⁻¹)			Média
	0,0	1,5	3,0	
----- Clorofila <i>a</i> (mg g ⁻¹ MF) -----				
0	3,06 ^{ins}	2,58	2,62	2,75 A ⁽¹⁾
50	2,19	2,36	2,23	2,26 B
Média	2,62 ^{bns}	2,47	2,43	
----- Clorofila <i>b</i> (mg g ⁻¹ MF) -----				
0	1,13 ^{ins}	0,91	0,96	1,00 ^{ans}
50	0,78	0,87	0,78	0,81
Média	0,95 ^{bns}	0,89	0,87	
----- Clorofila total (mg g ⁻¹ MF) -----				
0	4,18 ^{ins}	3,49	3,58	3,75 A
50	2,97	3,23	3,01	3,07 B
Média	3,58 ^{bns}	3,36	3,29	
----- Carotenoides (mg g ⁻¹ MF) -----				
0	0,63 ^{ins}	0,53	0,50	0,55 ^{ans}
50	0,53	0,52	0,48	0,51
Média	0,58 ^{bns}	0,52	0,48	
----- Carboidratos solúveis totais (mg g ⁻¹ MF) -----				
0	36,7 ^{ins}	45,6	36,0	39,5 B
50	46,1	52,0	40,5	46,2 A
Média	41,4 b	48,8 a	38,3 b	
----- Amido total (mg g ⁻¹ MF) -----				
0	0,56 ^{ins}	0,60	0,64	0,60 B
50	0,74	0,84	0,73	0,77 A
Média	0,65 ^{bns}	0,72	0,68	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letras maiúscula na coluna e pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05); ans = Fator A (Cu) não significativo; bns = Fator B (calagem) não significativo; ins = interação não significativa.

3. ESTUDO 2 – A CALAGEM PODE AMENIZAR A FITOTOXIDEZ DE COBRE: UM ESTUDO ENVOLVENDO ANATOMIA RADICULAR DE VIDEIRAS JOVENS (*VITIS LABRUSCA* L.)

RESUMO – O trabalho objetivou avaliar os efeitos da toxicidade de Cu sobre a anatomia radicular de videiras jovens e o efeito amenizante da calagem em solo de textura arenosa contaminado. Os tratamentos consistiram da adição de doses crescentes de calcário (0,0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹) e duas de Cu (0 e 50 mg kg⁻¹) em solo de textura arenosa. Videiras jovens obtidas por micropropagação foram cultivadas por 70 dias e, em seguida, avaliaram-se o diâmetro, áreas do córtex e do cilindro vascular das raízes, números de camadas do córtex e de células contendo compostos fenólicos nas raízes, matéria seca de raízes, caule e folhas, incremento em altura, teor e acúmulo de Cu, Ca e Mg nas raízes, caule e folhas. O excesso de Cu no solo alterou a organização das células no ápice radicular, aumentou as áreas do córtex e do cilindro vascular e, conseqüentemente, o diâmetro das raízes, mas reduziu o crescimento das videiras jovens. Além disso, a exposição ao Cu causou, nas raízes, o acúmulo de compostos fenólicos nas células do córtex, reduziu o teor de Ca e incrementou o teor e a porcentagem de Cu acumulado. A calagem reduziu a fitotoxidez de Cu para videiras jovens por meio do aumento da absorção de Ca e Mg e por evitar o transporte de Cu em excesso para a parte aérea das plantas. Na videira, esses efeitos amenizantes da calagem evitaram alterações anatômicas das raízes quando expostas a este contaminante.

3.1. INTRODUÇÃO

As frequentes aplicações de fungicidas e caldas à base de cobre (Cu) para o controle de doenças fúngicas foliares em videiras (*Vitis* sp.) causa o acúmulo do metal pesado no solo ao longo dos anos, especialmente nas camadas mais superficiais do solo (Brunetto et al., 2014; Couto et al., 2015). Com o passar dos anos, a produtividade de uva diminui, havendo a necessidade de erradicação dos vinhedos mais antigos para, em seguida, revolver o solo e realizar um novo transplante de videiras jovens. Com isso, a oxidação da matéria orgânica é potencializada, aumentando a disponibilidade de Cu, que pode ser tóxico (Toselli et al., 2009).

O Cu é um nutriente essencial às plantas, mas quando em excesso pode provocar alterações anatômicas, morfológicas e fisiológicas, tal como danos nas raízes, inibição da absorção de nutrientes, redução da taxa fotossintética e do crescimento das plantas (Michaud et al., 2008; Toselli et al., 2009; Lequeux et al., 2010; Cambrollé et al., 2015). As alterações causadas pela toxidez podem ser observadas nas diversas regiões das raízes. No ápice radicular, alterações nas divisões celulares e no arranjo dos tecidos ocasionam o encurtamento e o espessamento deste órgão, bem como o aumento da formação de raízes laterais; na epiderme, observa-se a plasmólise de algumas células, o que pode reduzir a densidade de pelos radiculares (Arduini et al., 1995; Sheldon & Menzies, 2005; Potters et al., 2007; Michaud et al., 2008; Juang et al., 2012; 2014; Chen et al., 2013; Zhang et al., 2014).

As alterações na estrutura anatômica das raízes podem se refletir em redução na absorção de nutrientes e água que, por sua vez, provocam a inibição do crescimento e menor incremento de biomassa de raí-

zes e da parte aérea das plantas (Kopittke et al., 2009; Toselli et al., 2009). A redução na absorção e acúmulo de Ca, Mg e K, por exemplo, também pode ser observada por causa da competição pela adsorção na superfície das raízes entre esses e o Cu, dificultando a passagem desses nutrientes para o interior da planta (Luo et al., 2008; Kopittke et al., 2011).

Metais pesados, como o Cu, em excesso no solo também podem estimular a produção de compostos fenólicos no interior de plantas, que podem se acumular em diferentes órgãos, como as raízes (Kováčik & Bačkor, 2007; Kováčik & Klejdus, 2008; Bouazizi et al., 2010; Yao et al., 2012; Cipriani et al., 2013). Esse acúmulo acontece em resposta ao estresse oxidativo causado por metais pesados (Michalak, 2006), que pode provocar a redução na concentração de pigmentos e na taxa fotossintética, inibindo o crescimento e o desenvolvimento da parte aérea das plantas (Cambrollé et al., 2015). Como os compostos fenólicos têm alta reatividade com metais pesados, podem agir como um agente quelante destes dentro da planta; isso, aliado às suas propriedades antioxidantes, torna o acúmulo desses compostos uma importante ferramenta para combater os danos por estresse oxidativo (Michalak, 2006).

A calagem, normalmente realizada antes da implantação do vinhedo, aumenta o pH e incrementa os valores de capacidade de troca de cátions (CTC) do solo, o que poderia reduzir a disponibilidade do Cu e diminuir a sua absorção pelas plantas (Agbenin & Olojo, 2004; Joris et al., 2012). Além disso, a calagem também pode ser benéfica por fornecer Ca e Mg às plantas, reduzindo os efeitos tóxicos do Cu. O efeito desses dois nutrientes sobre a toxidez de Cu em videiras jovens foi constatado por Chen et al. (2013) e Juang et al. (2014), que verificaram, res-

pectivamente, que o incremento de Ca e de Mg em solução reduz os efeitos causados pelo Cu na estrutura das raízes, diminuindo o transporte de Cu para a parte aérea e promovendo o aumento da biomassa das plantas. Portanto, a aplicação de calcário no solo antes da implantação do vinhedo pode ser uma das estratégias para minimizar o efeito tóxico do Cu em videiras jovens.

Como as doses de calcário são dependentes da acidez potencial do solo, que por sua vez está associada, especialmente, ao teor de argila e à matéria orgânica do solo (Kaminski et al., 2007), é necessário estabelecer a dose de calcário adequada em cada tipo de solo para amenizar a toxidez de Cu em videiras jovens. Isso porque, se for aplicada uma dose acima do ideal, o balanço nutricional da planta pode ser alterado, deixando a mesma pouco resistente a estresses e prejudicando o seu crescimento (Spann & Schumann, 2010). Sendo assim, denota-se a importância da realização de estudos dessa natureza, incluindo a avaliação das respostas estruturais, nutricionais e de crescimento das videiras jovens submetidas ao estresse por Cu.

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da toxicidade de Cu sobre a anatomia radicular de videiras jovens e o efeito amenizante da calagem em solo de textura arenosa contaminado.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Coleta e preparo do solo

O solo utilizado no experimento foi coletado na camada de 0-20 cm em uma área de campo nativo adjacente a vinhedos no município de Santana do Livramento, região da Campanha Gaúcha (RS), região Sul do Brasil. O solo foi classificado como Argissolo Vermelho (Embrapa,

2013). Após a coleta, o solo foi seco ao ar, passado em peneira com malha de 2 mm e homogeneizado.

O solo foi dividido em três partes, nas quais foram adicionadas doses de calcário equivalentes a 0,0, 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹ de CaCO₃ (PRNT 100%). Posteriormente, o solo foi incubado por 40 dias. O calcário aplicado era composto por uma mistura de CaCO₃ e MgCO₃ (reagentes PA, marca Synth), com proporção para manter a relação Ca:Mg de 2:1. Cada uma das três partes de solo foi novamente separada em duas: a primeira foi mantida sem a aplicação de Cu e a segunda recebeu a aplicação de 50 mg kg⁻¹ de Cu na forma de CuSO₄.5H₂O (reagente PA, marca Synth). As amostras de solo foram incubadas novamente por 30 dias. Nas duas incubações, o solo foi mantido com água a 70% da capacidade de campo. Após o preparo, o solo foi dividido em duas porções: uma porção para a condução do experimento e outra para as análises de caracterização química e granulométrica, apresentadas na Tabela 5.

3.2.2. Obtenção do material vegetal

Mudas de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) foram produzidas por micropropagação e aclimatizadas em substrato estéril. Os explantes foram cultivados por 30 dias em tubos de ensaio (110 x 23 mm) contendo 10 mL de meio de cultura Galzy (1964) em sala de crescimento a 23±2 °C com fotoperíodo de 16 horas de luz dia⁻¹, com radiação fotossinteticamente ativa de 75 μmol de fótons m⁻² s⁻¹. Posteriormente, as plantas foram transferidas para recipientes plásticos de 200 mL, contendo substrato hortícola e vermiculita fina (relação 1:1), e cultivadas por mais 30 dias em sala de crescimento a 25±4 °C com fotope-

ríodo de 12 horas de luz dia^{-1} , com radiação fotossinteticamente ativa de $100 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.2.3. Condução experimental

O experimento foi conduzido em ambiente controlado (fitotron) com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas de luz dia^{-1} , com radiação fotossinteticamente ativa de $200 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As unidades experimentais foram compostas por recipientes do tipo rhizobox de dimensões $20 \times 32 \times 4 \text{ cm}$ (largura x altura x profundidade), construídos em madeira e com as faces internas revestidas com placas de acrílico para evitar o contato do solo e das raízes das plantas com a madeira. A face de acrílico do rhizobox que ficou voltada para cima foi coberta com papel alumínio, e todas as faces do recipiente foram envoltas com um plástico de cor preta para evitar a incidência de luz no interior do solo. Os rhizobox foram dispostos sobre bancada com inclinação aproximada de 30° para possibilitar o crescimento das raízes em direção à face de acrílico, permitindo a sua visualização mediante a retirada do plástico que revestia o recipiente. Em cada unidade experimental foram adicionados $1,2 \text{ kg}$ de solo, onde foi transplantada uma videira jovem.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com seis repetições em arranjo fatorial 2×3 , sendo duas concentrações de Cu aplicadas ao solo (0 e 50 mg kg^{-1}) e três doses de calcário (0 , $1,5$ e $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$), totalizando seis tratamentos. As plantas foram cultivadas por um período de 70 dias. Ao longo do cultivo, foi aplicada a solução de Hoagland & Arnon (1950) modificada (sem Cu, Ca e Mg), adicionada parceladamente a cada semana. Ao todo, foram adicionados, por kg de solo: $15,8 \text{ mg}$ de N; $2,4 \text{ mg}$ de P; $17,6 \text{ mg}$ de K; $5,0 \text{ mg}$ de S; $5,4 \text{ mg}$ de

Cl; 0,4 mg de Fe; 0,2 mg de Na; 37,0 µg de B; 37,6 µg de Mn; 3,8 µg de Zn e 0,2 µg de Mo. Além disso, a umidade do solo foi monitorada diariamente e, quando necessário, foi realizada a irrigação.

3.2.4. Análise anatômica das raízes

Para as análises anatômicas, no final do experimento, foram selecionadas aleatoriamente cinco raízes no terço inferior de cada rhizobox, sendo seccionadas, com auxílio de um bisturi e de uma pinça, amostras de 1,5 cm a partir do ápice radicular. Cada amostra foi dividida em dois segmentos: um com 0,5 cm de comprimento a partir do ápice para as secções longitudinais, e o outro com 1,0 cm para as secções transversais.

As amostras foram fixadas em solução de paraformaldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ (1:1) com pH 7,2, por 24 horas (Schmidt et al., 2009). Após a fixação, as amostras foram lavadas três vezes com tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ e, em seguida, desidratadas em série etflica crescente. Na sequência, o solo foi retirado da superfície das raízes utilizando uma lavadora ultrassônica (modelo MaxiClean 750, Unique®). Posteriormente, as amostras foram submetidas ao processo de inclusão em glicol-metacrilato (Historesin, Leica®), de acordo com as indicações do fabricante. Após a secagem, as secções foram realizadas com espessura de 5 µm em micrótomo manual (Leica® RM 2135) com navalha de aço. As secções foram alocadas em lâminas histológicas, coradas com azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 6,8 (O'Brien et al., 1964), e montadas com bálsamo-do-canadá. Na sequência, as lâminas foram observadas em microscópio óptico (modelo

BX40, Olympus®). A captura das imagens foi realizada por uma câmera fotográfica (modelo DP71, Olympus®) acoplada ao microscópio.

O diâmetro das raízes e as áreas do córtex e do cilindro vascular foram determinados analisando as imagens das secções transversais com o software ImageJ®. O número de camadas do córtex e o número de células do córtex contendo compostos fenólicos foram determinados por contagem, utilizando as imagens das secções transversais das raízes.

3.2.5. Amostragem do material vegetal

No início e no final do cultivo foi determinada a altura das plantas usando régua graduada, sendo que a altura inicial foi subtraída da final para a obtenção do incremento em altura das plantas.

No final do cultivo, a parte aérea das plantas foi cortada rente à superfície do solo, as folhas foram desprendidas do caule e as raízes separadas do solo manualmente. Posteriormente, a massa fresca de cada parte da planta foi seca em estufa com ar forçado a 65 °C até atingir massa constante para a determinação da produção de matéria seca (MS), realizada em balança de precisão. Os tecidos foram moídos e reservados para posterior análise dos teores totais de Cu, Ca e Mg.

3.2.6. Análises de nutrientes nos tecidos vegetais

Para a determinação dos teores de Cu, Ca e Mg foi realizada a digestão em forno mufla a 500-550 °C por três horas, com posterior diluição em HNO₃ (1 mol L⁻¹) (Embrapa, 1997). Na sequência, os teores dos nutrientes nos extratos foram quantificados por espectrofotometria de absorção atômica.

O acúmulo dos nutrientes em cada parte da planta (expresso em g planta^{-1}) foi calculado pela multiplicação do teor de cada nutriente pela MS de cada parte. Posteriormente, calculou-se a porcentagem relativa dos nutrientes acumulados em cada órgão da planta, adotando como referência (valor igual a 100%) o total do nutriente acumulado em toda a planta.

3.2.7. Análises estatísticas

Os dados de porcentagem relativa dos nutrientes acumulados foram transformados em arco seno da raiz quadrada da porcentagem para a homogeneização da variância. Posteriormente, todos os dados foram submetidos ao teste de Cochran para verificar a homocedasticidade e, em seguida, realizou-se a análise de variância e, quando houve significância, aplicou-se o teste de separação de médias de Tukey ($P < 0,05$).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Estrutura anatômica das raízes

O ápice das raízes apresentou alterações na organização das células entre os tratamentos (Figuras 3a-3f). Quando foi adicionado 50 mg kg^{-1} de Cu no solo sem calagem e com adição de $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário no solo, observou-se o encurtamento da região de diferenciação celular, havendo células mais alongadas e diferenciadas bem próximo ao ápice, além da redução no tamanho da coifa (Figuras 3b e 3d). Nos tratamentos sem adição de Cu no solo (Figuras 3a, 3c e 3e) e no solo com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário (Figura 3f), o ápice radicular apresentou regiões de divisão, expansão e diferenciação bem delimitadas.

A análise de secções transversais das raízes sob diferentes tratamentos (Figura 4a-f) revelou alterações estruturais apenas quando adicionado 50 mg kg^{-1} de Cu sem a calagem (Figura 4b). Nestas condições, houve o aumento de 47% no diâmetro, de 128% na área do córtex e de 93% na área do cilindro vascular das raízes, em média (Tabela 7; Figura 4b). Com a adição de 1,5 e $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário (Figuras 4d e 4f), as raízes apresentaram redução nessas variáveis, exibindo medidas semelhantes às raízes das plantas cultivadas em solo sem adição de Cu (Tabela 7; Figuras 4a, 4c e 4e).

Para o número de camadas do córtex, houve efeito do Cu e da calagem, mas sem efeito de interação (Tabela 6). A adição de 50 mg kg^{-1} de Cu no solo promoveu o aumento do número de camadas do córtex, mas somente quando não houve a adição de 1,5 e $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário (Tabela 7; Figura 4a-f). Cabe ressaltar que a magnitude das alterações provocadas pelo Cu e pela calagem foi de apenas uma camada de células.

As raízes das videiras jovens cultivadas em todos os tratamentos apresentaram células contendo compostos fenólicos (Figura 4a-f). No entanto, para essa variável, houve efeito de interação significativa para os fatores Cu e calagem (Tabela 6). A adição de Cu no solo sem a calagem promoveu incremento médio de 132% no número de células do córtex com compostos fenólicos (Figura 4b). Entretanto, quando foram adicionados 1,5 e $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário no solo (Figura 4d e 2f), observou-se um menor número de células do córtex contendo compostos fenólicos (Tabela 7). A calagem não apresentou efeito sobre essa variável nos tratamentos sem adição de Cu no solo (Tabela 7; Figuras 4a, 4c e 4f).

Nas secções transversais também é possível observar o acúmulo de compostos fenólicos em células da endoderme (Figura 4a-f). E, assim como no córtex, o acúmulo mais intenso desses compostos ocorreu nas raízes das plantas cultivadas em solo com adição de Cu e sem calagem (Figura 4b).

3.3.2. Matéria seca e altura das plantas

A MS de raízes e do caule e o incremento em altura das plantas foram influenciados significativamente pela interação das fontes de variação doses de Cu e doses de calcário aplicadas (Tabela 6). A adição de Cu no solo sem a calagem reduziu a MS de raízes em 41%, em média, mas quando foram adicionados 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário no solo, a adição de Cu não causou efeito sobre essa variável (Tabela 8). Quando não foi adicionado Cu no solo, a calagem não afetou a produção de MS de raízes.

A MS do caule e o incremento em altura das plantas foram reduzidos, em média, em 44 e 55%, respectivamente, no solo com adição de Cu e sem calagem (Tabela 8). Quando adicionado 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário no solo, o efeito do Cu sobre essas variáveis foi menor: em média, a MS do caule foi reduzida em 31% e o incremento em altura em 44% com a adição de Cu; e quando adicionado 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, o fator Cu no solo não causou efeito sobre essas variáveis.

A MS das folhas sofreu efeito apenas do fator Cu (Tabela 6). As videiras jovens cultivadas no solo com a adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu apresentaram redução de 21%, em média, na MS das folhas (Tabela 8).

3.3.3. Teor e acúmulo de nutrientes nas plantas

O teor de Cu nas raízes e no caule apresentou efeito de interação para os fatores Cu e calagem, enquanto o teor de Cu nas folhas sofreu efeito apenas da calagem (Tabela 6). Nas raízes, o teor de Cu foi incrementado em 371%, em média, nas plantas cultivadas com a adição do metal pesado no solo, independente da dose de calcário (Figura 5a). Quando comparadas as doses de calcário dentro das doses de Cu, houve efeito apenas quando foi adicionada a dose 50 mg kg⁻¹ de Cu. Neste caso, o teor do metal nas raízes se manteve similar nos tratamentos sem calagem e com adição de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário. Mas quando foi adicionado 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, houve aumento de 58% no teor de Cu nas raízes, em comparação aos tratamentos sem calagem.

A adição de Cu no solo não influenciou os teores desse elemento no caule da videira (Figura 5b). No entanto, observa-se que a adição de calcário proporcionou o aumento do teor de Cu no caule das plantas. Nos tratamentos sem adição de Cu, a adição de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário não causou efeito sobre o teor do metal pesado, mas a dose de 3,0 Mg ha⁻¹ promoveu o incremento de 62% no teor de Cu no caule em relação às videiras jovens cultivadas no solo sem adição de Cu e de calcário. Quando as plantas foram cultivadas em solo com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu, a dose de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário promoveu o aumento de 30% no teor de Cu no caule, em relação ao tratamento sem calagem. Com a dose de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, o teor de Cu no caule não diferiu entre os tratamentos com e sem adição de Cu no solo.

Nas folhas, o teor de Cu apresentou efeito apenas para o fator calagem (Figura 5c). Quando adicionada a dose de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário, houve redução média de 31% no teor de Cu nas folhas, em relação ao tratamento sem calagem. Todavia, quando foram adicionados 3,0 Mg

ha⁻¹ de calcário no solo, o teor de Cu nas folhas voltou à condição observada no tratamento sem adição de calcário.

A porcentagem relativa de Cu acumulado em cada órgão da planta apresentou efeito de interação entre os fatores Cu e calagem (Tabela 6). Com a adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu no solo, houve maior porcentagem relativa do metal pesado acumulado nas raízes e menor no caule e nas folhas, em relação aos tratamentos sem adição de Cu, independente da dose de calcário aplicada (Figura 6a). Comparando o efeito das doses de calcário dentro das doses de Cu, nas plantas cultivadas em solo sem adição de Cu, observou-se que o aumento das doses de calcário promoveu redução na porcentagem do metal pesado acumulado nas raízes, aumentando a porcentagem acumulada no caule e nas folhas. No entanto, cabe ressaltar que, independente do tratamento aplicado, a maior porcentagem de Cu acumulado foi nas raízes. Nas plantas expostas à dose de 50 mg kg⁻¹ de Cu no solo não houve efeito da calagem sobre a porcentagem do metal acumulado em cada órgão.

O teor de Ca nas raízes apresentou efeito dos fatores Cu e calagem, mas não de interação; já o teor do nutriente no caule e nas folhas apresentou efeito apenas do fator calagem (Tabela 6). A porcentagem relativa de Ca acumulado em cada órgão da planta não foi significativa para os tratamentos aplicados (Tabela 6; Figura 6b).

A adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu no solo reduziu, em média, o teor de Ca nas raízes em 13% (Figura 5d). No entanto, a adição de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário no solo promoveu o incremento de 43% no teor desse nutriente nas raízes, em relação ao tratamento sem calagem. Para o teor de Ca no caule e nas folhas, houve efeito apenas da calagem. No caule, a adição de 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário promoveu incrementos médios

no teor de Ca de 33 e 20%, respectivamente (Figura 5e). Nas folhas, apenas a dose de 3,0 Mg ha⁻¹ apresentou efeito sobre o teor de Ca, promovendo incrementos médios de 38%, em relação ao tratamento sem calagem (Figura 5f).

O teor de Mg nas raízes não apresentou efeito dos tratamentos (Tabela 6; Figura 5g), porém, no caule e nas folhas apresentou efeito apenas do fator calagem (Tabela 6). No caule, o teor de Mg foi incrementado em 30 e 35%, em média, com a adição de 1,5 e 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, respectivamente, em relação aos tratamentos sem calagem (Figura 5h). Nas folhas, o teor de Mg foi incrementado em 35%, em média, pela adição de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário, em relação ao tratamento sem adição de calcário (Figura 5i).

A porcentagem relativa de Mg acumulado nas raízes apresentou interação dos fatores Cu e calagem, nas folhas houve efeito apenas do fator Cu, e no caule não houve efeito dos tratamentos para o Mg acumulado (Tabela 6). A adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu no solo reduziu a porcentagem de Mg acumulado nas raízes de 42 para 36%, mas promoveu o incremento do acúmulo do nutriente nas folhas de 48 para 55%, em relação ao tratamento sem adição do metal (Figura 6c). Além disso, o aumento das doses de calcário no solo reduziu a porcentagem relativa de Mg acumulado nas raízes, diminuindo, em média, de 44% no tratamento sem calagem para 36% no tratamento com adição de 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário. Apesar disso, não houve efeito das doses de calcário sobre a porcentagem relativa do nutriente acumulado no caule e nas folhas.

3.4. DISCUSSÃO

3.4.1. Estrutura anatômica das raízes e crescimento das plantas

Verificou-se que o ápice das raízes das videiras jovens apresentaram alterações na organização celular em solo com adição de Cu e sem aplicação de calagem. Um dos sintomas observados nesses tratamentos foi o encurtamento da região de diferenciação celular. Resultados similares foram encontrados no milho (*Zea mays* L.), por Jiang et al. (2001), que verificaram que o excesso de Cu alterou o índice mitótico e reduziu a frequência de divisão celular no ápice das raízes, inibindo o crescimento das raízes.

A redução do tamanho da coifa, observada no ápice das raízes expostas à adição de Cu e sem calagem, é um sintoma conhecido de toxicidade de Cu, sendo provavelmente causado pela redução da divisão celular, que também é ocasionada pelo excesso de Cu (Ouzounidou et al., 1992). Ter a coifa menos espessa pode ser prejudicial para a planta, uma vez que ela desempenha a função de proteção do meristema apical radicular, além de facilitar a penetração da raiz no solo (Lynch et al., 2012).

O excesso de Cu no solo também provocou alterações em regiões mais distantes do ápice radicular, como o aumento no diâmetro e nas áreas do córtex e do cilindro vascular – sintomas também constatados em outras espécies, como por exemplo em espécies de *Pinus* (Arduini et al., 1995), no trigo (*Triticum turgidum durum* L.) (Michaud et al., 2008) e em *Kummerowia stipulacea* (maxim.) Makino (Zhang et al., 2014). O aumento na área do córtex e, consequentemente, do diâmetro das raízes nas videiras jovens pode ter sido provocado pela desorganização no arranjo das células do córtex. Mas, além disso, o aumento do diâmetro das raízes expostas a altos teores de metais pesados normalmente é relacio-

nado à inibição do comprimento das raízes (Arduini et al., 1995; Rucinska et al., 1999), o que, por sua vez, está associado a distúrbios na divisão celular (Rucinska et al., 1999; Jiang et al., 2001). No presente trabalho, isso pode estar ligado ao encurtamento da região de diferenciação celular nas raízes expostas ao excesso de Cu no solo.

Observou-se também um acúmulo de compostos fenólicos intenso em células da endoderme e das demais camadas do córtex nas raízes das videiras cultivadas em solo com adição de Cu e sem calagem. O acúmulo de compostos fenólicos em raízes de plantas expostas ao excesso de Cu e de outros metais já foi observado em outras espécies (Kováčik & Bačkor, 2007; Kováčik & Klejdus, 2008; Bouazizi et al., 2010).

Em videiras, o acúmulo de compostos fenólicos já foi observado nas folhas de plantas expostas ao excesso de manganês (Mn) (Yao et al., 2012). Segundo Michalak (2006), o acúmulo desses compostos nas plantas com estresse por metais pesados é uma estratégia de defesa contra o estresse oxidativo causado por espécies reativas de oxigênio (ERO), produzidas com mais intensidade nessa situação. Ainda de acordo com esses autores, esses compostos podem atuar na proteção das plantas contra as ERO por diferentes maneiras: 1 – como agentes quelantes dos metais no interior da planta, reduzindo o seu poder de reação no metabolismo vegetal; 2 – pela inibição da peroxidação lipídica por íons metálicos; 3 – pela eliminação direta das ERO.

Assim, como nas videiras do presente experimento, Cipriani et al. (2013) verificaram o acúmulo de compostos fenólicos em células do córtex de *Acacia mangium* e de *Mimosa caesalpiniaefolia* expostas ao estresse por As. Além disso, é importante ressaltar os resultados encontrados por Ofei-Manu et al. (2001), que observaram que espécies de

plantas lenhosas mais tolerantes ao alumínio (Al) acumulam maior quantidade de compostos fenólicos no seu interior. Além disso, alguns compostos fenólicos também atuam na síntese de lignina nas plantas e, por isso, o seu incremento na planta poderia promover o reforço da parede celular e formar barreiras físicas contra a entrada e a distribuição dos metais pesados na planta (Michalak, 2006). Sendo assim, é possível afirmar que o maior acúmulo de compostos fenólicos nas raízes das videiras jovens cultivadas em solo, com adição de Cu e sem calagem, é uma estratégia de defesa contra o estresse causado por este metal pesado.

Os sintomas do excesso de Cu na estrutura anatômica das raízes das videiras jovens foram amenizados com a adição de calcário, principalmente com a maior dose testada. Com a calagem, os teores de Ca e Mg trocáveis no solo foram incrementados, o que tem um efeito positivo para as plantas. Por exemplo, trabalhos realizados com videiras jovens em solução contendo concentrações crescentes de Cu e Ca (Chen et al., 2013) e com adição de Cu e Mg (Juang et al., 2014) relatam que os sintomas de toxidez de Cu observados nas raízes foram amenizados pelo Ca e pelo Mg, respectivamente.

O incremento de Ca e Mg no interior das plantas auxilia na redução do transporte de Cu das raízes para a parte aérea, local onde os danos pelo excesso de Cu são mais severos (Chen et al., 2013; Juang et al., 2014). Além disso, o Ca e o Mg são constituintes da pectina presente na lamela média e, por isso, o seu incremento na planta pode promover o reforço da parede celular (Hawkesford et al., 2012), reduzindo os efeitos tóxicos do Cu sobre os tecidos radiculares (Chen et al., 2013; Juang et al., 2014). O Mg atua na síntese e é componente da molécula da clo-

rofila (Hawkesford et al., 2012). Assim, o incremento de Mg na planta é importante por proporcionar a competição do Mg com o Cu, evitando que este metal o substitua como íon central da molécula de clorofila e manifeste sintomas causados pela toxidez (Yruela, 2009).

A exposição ao excesso de Cu também reduziu a MS de raízes, caule e folhas e o incremento em altura das videiras jovens. Esses sintomas são característicos da toxidez por Cu e já foram relatados em trabalhos com várias espécies, como trigo (Michaud et al., 2008), *Urochloa mosambicensis* (Hack.) Dandy (Kopittke et al., 2009), *Arabidopsis thaliana* (Lequeux et al., 2010), *Kummerowia stipulacea* (maxim.) Makino (Zhang et al., 2014) e mesmo com videiras (Melo et al., 2008; Toselli et al., 2009; Juang et al., 2012; 2014; Chen et al., 2013; Cambrollé et al., 2015).

A redução da biomassa das plantas expostas ao excesso de Cu pode ser uma consequência de outros sintomas. Por exemplo, o contato do sistema radicular com o solo contendo alto teor de Cu pode causar toxidez a ponto de danificar a cutícula e causar rachaduras nas raízes, além das alterações estruturais mencionadas anteriormente, inibindo o crescimento e a produção de biomassa das raízes (Sheldon & Menzies, 2005; Michaud et al., 2008). Como consequência, há a menor exploração do solo pelo sistema radicular e a absorção de água e nutrientes é reduzida, se refletindo no menor incremento de biomassa e de crescimento das plantas (Melo et al., 2008; Kopittke et al., 2009; Toselli et al., 2009).

A prática da calagem, além de proporcionar o incremento dos teores de Ca e Mg trocáveis no solo, promove a desprotonação de H^+ e aumenta a CTC do solo, podendo aumentar a adsorção de Cu e reduzir a

sua disponibilidade às plantas (Joris et al., 2012). Ademais, a adição de calcário promove o aumento do pH do solo e, com isso, aumenta concentração de OH^- no solo, que pode precipitar o Cu na forma de hidróxido e torná-lo indisponível às plantas (Agbenin & Olojo, 2004).

3.4.2. Teor e acúmulo de nutrientes nas plantas

A adição de 50 mg kg^{-1} de Cu no solo promoveu o incremento do teor de Cu nas raízes das videiras jovens, mas não na parte aérea. O aumento no teor de Cu nas raízes foi acompanhado de uma maior porcentagem relativa de acúmulo do metal pesado nas raízes e menor na parte aérea. No entanto, quando não houve adição de Cu no solo, o aumento das doses de calcário reduziu o acúmulo do metal nas raízes, que foi incrementado no caule e nas folhas. Isso indica que em condições na qual o teor de Cu no solo é normal, a calagem proporcionou maior transporte do metal para a parte aérea, mas em condição de exposição ao alto teor de Cu no solo, o transporte foi reduzido. Lequeux et al. (2010), em estudo com *Arabidopsis thaliana*, também constataram o maior acúmulo de Cu nas raízes expostas a altas concentrações do metal pesado e atribuíram isso à retenção do Cu na parede celular, no apoplasto, considerado um importante mecanismo de tolerância ao estresse.

A redução do transporte de Cu das raízes para a parte aérea também pode ter sido ocasionada pelo incremento dos teores de Ca e Mg no interior da planta, como constatado por Chen et al. (2013) e Juang et al. (2014), respectivamente. Esse efeito foi importante para as videiras jovens do presente experimento, pois proporcionou que o teor de Cu nas folhas fosse mantido dentro da faixa considerada normal para a videira, que é de $10\text{-}20 \text{ mg kg}^{-1}$ (Jones Jr. et al., 1991), e para a maioria

das espécies, que é 5-30 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias, 2011), corroborando com os resultados de Toselli et al. (2009).

O teor de Ca nas raízes foi reduzido pela adição de Cu no solo, mas o seu teor no caule e nas folhas não sofreram efeito do metal. O teor de Mg em todas as partes da planta não foi afetado pela adição de Cu no solo. A redução no teor de Ca nas raízes promovido pela exposição a altas concentrações de Cu também foi constatada por Toselli et al. (2009) e por Chen et al. (2013). A redução no teor de Ca na planta pode ser uma consequência da competição pela adsorção na superfície das raízes entre íons de mesma valência, como o Cu e o Ca, o que teria provocado a diminuição da absorção de Ca (Luo et al., 2008; Kopittke et al., 2011).

Como era esperado, o aumento das doses de calcário adicionadas promoveram o incremento dos teores de Ca e Mg nas raízes, no caule e nas folhas, independente da dose de Cu. Como relatado anteriormente, o incremento desses dois nutrientes no interior da planta pode amenizar os sintomas de toxidez de Cu em videiras jovens (Chen et al., 2013; Juang et al., 2014).

3.5. CONCLUSÕES

O excesso de Cu no solo altera a organização das células no ápice radicular, aumenta as áreas do córtex e do cilindro vascular e, consequentemente, o diâmetro das raízes, embora reduza o crescimento das videiras jovens. Além disso, a exposição ao Cu causa o acúmulo de compostos fenólicos nas células do córtex no ápice radicular, reduz o teor de Ca nas raízes e incrementa o teor e a porcentagem de Cu acumulado nas raízes das plantas.

A calagem reduz a fitotoxidez de Cu para videiras jovens por meio do aumento da absorção de Ca e Mg e por evitar o transporte de Cu em excesso para a parte aérea das plantas. Esses efeitos amenizantes da calagem evitam alterações anatômicas das raízes das plantas quando expostas a este contaminante.

3.6. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), projeto nº 1971-2551/13-2, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), projeto nº 473376/2013-0, pelo financiamento do trabalho.

3.7. REFERÊNCIAS

AGBENIN, J.O.; OLOJO, L.A. Competitive adsorption of copper and zinc by a Bt horizon of a savanna Alfisol as affected by pH and selective removal of hydrous oxides and organic matter. **Geoderma**, v.119, p.85-95, 2004.

ARDUINI, I.; GODBOLD, D. L.; ONNIS, A. Influence of copper on root growth and morphology of *Pinus pinea* L. and *Pinus pinaster* Ait. seedlings. **Tree Physiology**, v.15, p.411-415, 1995.

BOUAZIZI, H.; JOUILI, H.; GEITMANN, A.; EL FERJANI, E. Structural changes of cell wall and lignifying enzymes modulations in bean roots in response to copper stress. **Biological Trace Element Research**, v.136, p.232-240, 2010.

BRUNETTO, G; MIOTTO, A; CERETTA, C.A.; SCHMITT, D.E.; HEINZEN, J.; MORAES, M.P.; CANTON, L.; TIECHER, T.L.; COMIN, J.J.; GIROTTO, E. Mobility of copper and zinc fractions in fungicide amended vineyard sandy soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.60, p.609-624, 2014.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J.L.; FIGUEROA, M.E.; CANTOS, M. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v.120, p.171-178, 2015.

CHAIGNON, V.; HINSINGER, P. A biotest for evaluating copper bio-availability to plants in a contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, v.32, p.824-833, 2003.

CHEN, P.Y.; LEE, Y.I.; CHEN, B.C.; JUANG, K.W. Effects of calcium on rhizotoxicity and the accumulation and translocation of copper by grapevines. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p.375-382, 2013.

CIPRIANI, H. N.; DIAS, L. E.; COSTA, M. D.; CAMPOS, N. V.; AZEVEDO, A. A.; GOMES, R. J.; FIALHO, I. F.; AMEZQUITA, S. P. M. Arsenic toxicity in *Acacia mangium* Willd. and *Mimosa caesalpiniae* Benth. seedlings. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.37, p.1423-1430, 2013.

COUTO, R.R.; BENEDET, L.; COMIN, J.J.; BELLI FILHO, P.; MARTINS, S.R.; GATIBONI, L.C.; RADETSKI, M.; VALOIS, C. M.; AM-

BROSINI, V.G.; BRUNETTO, G. Accumulation of copper and zinc fractions in vineyard soil in the mid-western region of Santa Catarina, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, 2015.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CPNS, 1997. 212p.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 ed. Embrapa: Brasília, 2013. 353p.

GALZY, R. Technique de thermothérapie des viroses de la vigne. **Ann Épiphyt**, v.15, n.3, p. 245-256, 1964.

HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MOLLER, I. S.; WHITE, P. Functions of macronutrients. In: MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)**. London: Academic Press, 2012. p.135-189.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.T. **The water culture method for growth plants without soil**. California Agriculture Experiment Station: Berkeley, 1950. 32p. (University of California, Circular 347).

JIANG, W.; LIU, D.; LIU, X. Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. **Biologia Plantarum**, v.44, n.1, p.105-109, 2001.

JONES JR., J.B.; WOLF, B.J.; MILLS, H.A. **Plant analysis handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide**. Georgia: Micro-Macro Publishing, 1991. 213p.

JORIS, H.A.W.; FONSECA, A.F.; ASAMI, V.Y.; BRIEDIS, C.; BORSZOWSKI, P.R.; GARBUIO, F.J. Adsorção de metais pesados após calagem superficial em um Latossolo Vermelho sob sistema de plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.43, n.1, p.1-10, 2012.

JUANG, K.W.; LEE, Y.I.; LAI, H.Y.; WANG, C.H.; CHEN, B.C. Copper accumulation, translocation, and toxic effects in grapevine cuttings. **Environmental Science and Pollution Research**, v.19, n.4, p.1315–1322, 2012.

JUANG, K.W.; LEE, Y.I.; LAI, H.Y.; CHEN, B.O. Influence of magnesium on copper phytotoxicity to and accumulation and translocation in grapevines. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.104, p.36-42, 2014.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4 ed. CRC Press: Boca Raton. 2011. 505p.

KAMINSKI, J.; SILVA, L.S.; CERETTA, C.A.; RHEINHEIMER, D.S. Acidez e calagem em solos do Sul do Brasil: Aspectos históricos e perspectivas futuras. In: CERETTA, C.A.; SILVA, L.S.; REICHERT, J.M.

Tópicos em Ciência do Solo, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.307-332.

KOPITTKE, P.M.; ASHER, C.J.; BLAMEY, F.P.C.; MENZIES, N.W. Toxic effects of Cu^{2+} on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the Total Environment**, v.407, p.4616–4621, 2009.

KOPITTKE, P.M.; KINRAIDE, T.B.; WANG, P.; BLAMEY, F.P.C.; REICHMAN, S.M.; MENZIES, M.W. Alleviation of Cu and Pb rhizotoxicities in cowpea (*Vigna unguiculata*) as related to ion activities at root-cell plasma membrane surface. **Environmental Science & Technology**, v.45, n.11, p.4966-4973, 2011.

KOVÁČIK, J.; BAČKOR, M. Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. **Water, Air & Soil Pollution**, v.185, p.185-193, 2007.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B. Dynamics of phenolic acids and lignin accumulation in metal-treated *Matricaria chamomilla* roots. **Plant Cell Reports**, v.27, p.605-615, 2008.

LEQUEUX, H.; HERMANS, C.; LUTTS, S.; VERBRUGGEN, N. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 673-682, 2010.

LUO, X.S.; LI, L.Z.; ZHOU, D.M. Effect of cations on copper toxicity to wheat root: Implications for the biotic ligand model. **Chemosphere**, v.73, n.3, p.401-406, 2008.

LYNCH, J.; MARSCHNER, P.; RENGEL, Z. Effect of internal and external factors on root growth and development. In: MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)**. London: Academic Press, 2012. p.331-346.

MELO, G.W.; BRUNETTO, G.; SCHAFER JUNIOR, A.; KAMINSKI, J.; FURLANETTO, V. Matéria seca e acumulação de nutrientes em videiras jovens cultivadas em solos com diferentes níveis de cobre. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.14, n.4, p.72-76, 2008.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.15, n.4, p.523-530, 2006.

MICHAUD, A.M.; CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). **Plant and Soil**, v.310, p.151-165, 2008.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.H.M.; HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.51, p.47-58, 1993.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v.59, n.2, p.368-373, 1964.

OFEL-MANU, P.; WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; TAWARAYA, K. The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with al tolerance in several common woody plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.47, n.2, p.359-375, 2001.

OUZOUNIDOU, G.; ELEFThERIOU, E.P.; KARATAG, S. Ecophysical and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae). **Canadian Journal of Botany**, v.70, p.947-957, 1992.

POTTERS, G.; PASTERNAK, T.P.; GUISEZ, Y.; PALME, K.J.; JANSEN, M.A.K. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? **Trends in Plant Science**, v.12, n.3, p.98-105, 2007.

RUCINSKA, R.; WAPLAK, S.; GWÓZDZ, E. A. Free radical formation and activity of antioxidant enzymes in lupin roots exposed to lead. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.37, p.187-194, 1999.

SCHMIDT, E.C.; SCARIOT, L.A.; ROVER, T; BOUZON, Z.L. Changes in ultrastructure and histochemistry of two red macroalgae strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), as a consequence of ultraviolet B radiation exposure. **Micron**, v.40, n.8, p.860-869, 2009.

SHELDON, A.R.; MENZIES, N.W. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. **Plant and Soil**, v.278, p.341-349, 2005.

SPANN, T.M.; SCHUMANN, A.W. **Mineral Nutrition Contributes to Plant Disease and Pest Resistance**. Florida: IFAS, University of Florida. 2010. 5p.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

TOSELLI, M.; BALDI, E.; MARCOLINI, G.; MALAGUTI, D.; QUARTIERI, M.; SORRENTI, G.; MARANGONI, B. Response of potted grapevines to increasing soil copper concentration. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.15, n.1, p.85-92, 2009.

YAO, Y.; XU, G.; MOU, D.; WANG, J.; MA, J. Subcellular Mn compartmentation, anatomic and biochemical changes of two grape varieties in response to excess manganese. **Chemosphere**, v.89, p.150-157, 2012.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v.36, p.409–430, 2009.

ZHANG, L.; PAN, Y.; LV, W.; XIONG, Z.T. Physiological responses of biomass allocation, root architecture, and invertase activity to copper

stress in young seedlings from two populations of *Kummerowia stipulacea* (maxim.) Makino. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.104, p.278-284, 2014. **Tabela 2.** Características de um solo Cambissolo Húmico antes do cultivo com pessegueiro.

Tabela 5. Atributos químicos e granulométricos do Argissolo Vermelho utilizado no cultivo de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Atributos	Cu0 Lim0,0	Cu0 Lim1,5	Cu0 Lim3,0	Cu50 Lim0,0	Cu50 Lim1,5	Cu50 Lim3,0
----- Antes do cultivo -----						
Areia (g kg ⁻¹) ⁽¹⁾	909	909	909	909	909	909
Silte (g kg ⁻¹) ⁽¹⁾	30	30	30	30	30	30
Argila (g kg ⁻¹) ⁽¹⁾	61	61	61	61	61	61
C-org total (g kg ⁻¹) ⁽²⁾	5,1	4,5	4,9	5,6	5,6	5,4
MOS (g kg ⁻¹) ⁽²⁾	8,8	7,7	8,5	9,6	9,6	9,4
pH em água ⁽²⁾	4,5	5,6	6,4	4,4	5,4	6,1
P disponível (mg kg ⁻¹) ⁽³⁾	4,8	4,3	5,7	5,1	4,6	6,4
K trocável (mg kg ⁻¹) ⁽³⁾	30,7	26,9	29,2	34,5	32,1	33,3
Al trocável (cmol _c kg ⁻¹) ⁽⁴⁾	3,1	0,0	0,0	4,1	1,1	0,0
Ca trocável (cmol _c kg ⁻¹) ⁽⁴⁾	2,0	2,5	4,4	2,3	2,6	4,2
Mg trocável (cmol _c kg ⁻¹) ⁽⁴⁾	1,8	1,8	2,3	1,8	2,6	2,7
Cu (extraído por EDTA) (mg kg ⁻¹) ⁽⁵⁾	2,4	2,4	2,2	23,0	23,2	21,5
Cu (extraído por CaCl ₂) (mg kg ⁻¹) ⁽⁶⁾	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
----- Depois do cultivo -----						
Cu (extraído por EDTA) (mg kg ⁻¹) ⁽⁵⁾	2,6	2,5	2,8	39,5	39,2	39,7
Cu (extraído por CaCl ₂) (mg kg ⁻¹) ⁽⁶⁾	0,1	0,1	0,1	6,6	2,7	0,3

Cu0 Lim0,0 – sem adição de Cu e sem calcário; Cu0 Lim1,5 – sem adição de Cu e com 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu0 Lim3,0 – sem adição de Cu e com 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu50 Lim0,0 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e sem calcário; Cu50 Lim1,5 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu50 Lim3,0 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário. ⁽¹⁾Método da pipeta (Embrapa, 1997); ⁽²⁾Determinado conforme Tedesco et al. (1995); ⁽³⁾Extraídos pelo extrator de Mehlich 1 (Tedesco et al., 1995); ⁽⁴⁾Extraídos pelo extrator KCl 1 mol L⁻¹ (Tedesco et al., 1995); ⁽⁵⁾Extraído por Na₂-EDTA 0,05 mol L⁻¹/acetato de amônio 1,0 mol L⁻¹, pH 6,0 (Chaignon & Hinsinger, 2003); ⁽⁶⁾Extraído por CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (Novozamsky et al., 1993).

Tabela 6. Valores de F e coeficientes de variação calculados na análise de variância para todas as variáveis analisadas em videiras jovens 'Niágara Branca' (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Variável	Valores de F			CV (%)
	Cu (A)	Calagem (B)	A x B	
Diâmetro da raiz (mm)	15,89**	17,62**	5,07*	14,11
Área do córtex (mm ²)	15,81**	14,60**	7,01**	30,58
Área do cilindro vascular (mm ²)	15,54**	12,41**	4,18*	27,31
Número de camadas do córtex	9,94*	12,41**	0,41 ^{ns}	13,93
Células do córtex com compostos fenólicos	9,44**	17,69**	5,86*	48,83
MS de raízes (g)	17,79**	1,09 ^{ns}	7,53**	17,05
MS do caule (g)	30,33**	1,00 ^{ns}	7,86**	16,37
MS das folhas (g)	27,20**	3,67 ^{ns}	1,48 ^{ns}	13,81
Incremento em altura (cm)	63,61**	4,75*	9,8**	16,96
Teor de Cu nas raízes (mg kg ⁻¹)	377,12**	18,31**	23,63**	14,19
Teor de Ca nas raízes (g kg ⁻¹)	7,81*	16,45**	0,71 ^{ns}	11,28
Teor de Mg nas raízes (g kg ⁻¹)	3,11 ^{ns}	2,47 ^{ns}	2,08 ^{ns}	14,87
Teor de Cu no caule (mg kg ⁻¹)	1,40 ^{ns}	15,76**	4,44*	10,22
Teor de Ca no caule (g kg ⁻¹)	0,36 ^{ns}	19,66**	3,27 ^{ns}	7,55
Teor de Mg no caule (g kg ⁻¹)	0,13 ^{ns}	11,99**	0,57 ^{ns}	11,59
Teor de Cu nas folhas (mg kg ⁻¹)	1,01 ^{ns}	8,06**	2,26 ^{ns}	20,13
Teor de Ca nas folhas (g kg ⁻¹)	1,51 ^{ns}	10,80**	2,48 ^{ns}	12,33
Teor de Mg nas folhas (g kg ⁻¹)	2,99 ^{ns}	9,56**	1,02 ^{ns}	11,66
Cu acumulado nas raízes (%)	242,02**	6,97*	11,51**	3,15
Ca acumulado nas raízes (%)	2,10 ^{ns}	1,23 ^{ns}	2,39 ^{ns}	5,91
Mg acumulado nas raízes (%)	5,54*	4,64*	1,58 ^{ns}	7,83
Cu acumulado no caule (%)	186,59**	10,64**	7,42*	10,10
Ca acumulado no caule (%)	0,29 ^{ns}	1,61 ^{ns}	0,32 ^{ns}	9,24
Mg acumulado no caule (%)	1,34 ^{ns}	2,57 ^{ns}	0,94 ^{ns}	8,21
Cu acumulado nas folhas (%)	122,15**	3,02 ^{ns}	5,80*	11,77
Ca acumulado nas folhas (%)	1,22 ^{ns}	1,75 ^{ns}	1,45 ^{ns}	4,95
Mg acumulado nas folhas (%)	8,60*	3,60 ^{ns}	1,93 ^{ns}	5,93

* = Significativo pelo teste F (p<0,05); ** = Significativo pelo teste F (p<0,01); ns = não significativo.

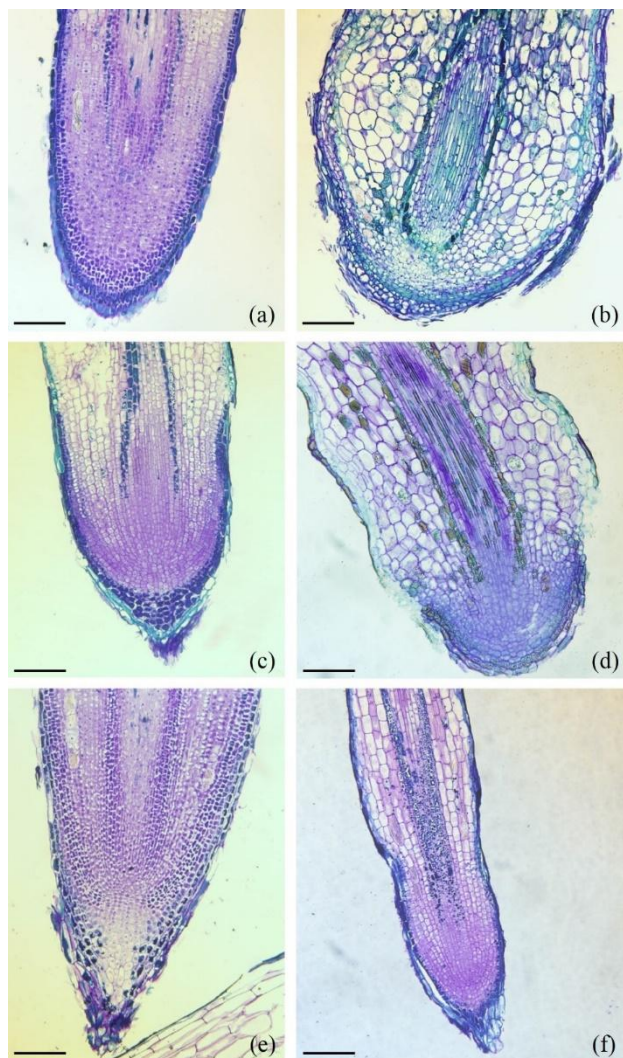


Figura 3. Secções longitudinais do ápice radicular de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e com 0,0, 1,5 e $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário.

(a) – sem adição de Cu e sem calcário; (b) – com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e sem calcário; (c) – sem adição de Cu e com $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário; (d) – com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e com $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário; (e) – sem adição de Cu e com $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário; (f) – com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e com $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário. Barras = $100 \text{ }\mu\text{m}$.

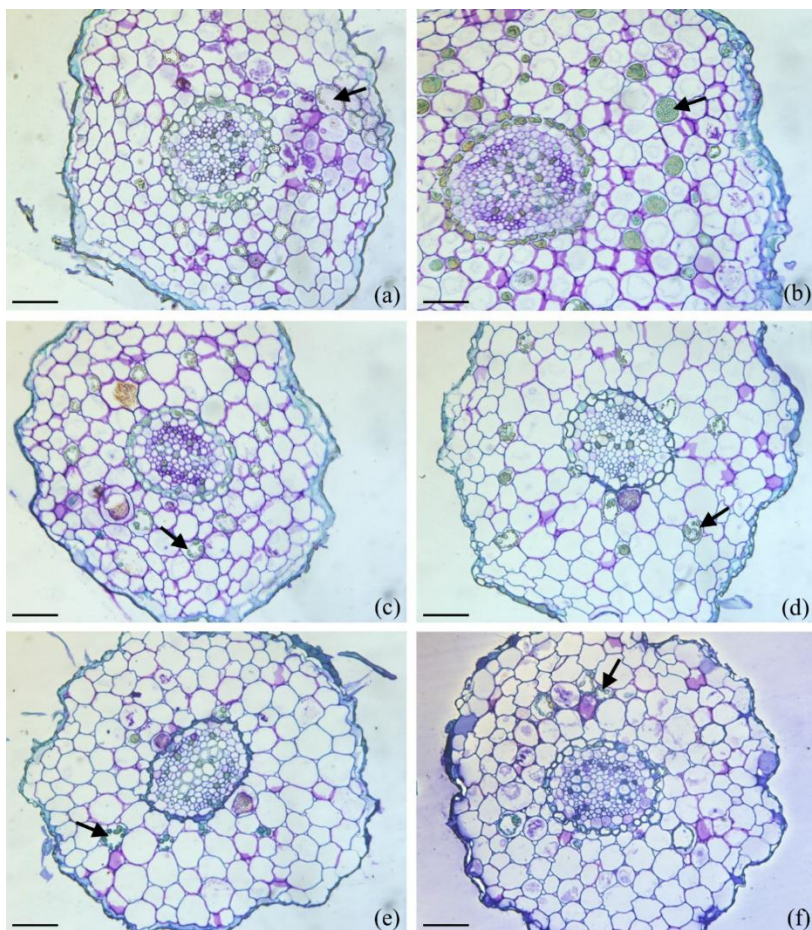


Figura 4. Secções transversais a 0,5–2,0 cm do ápice radicular de videiras jovens ‘Niagara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e com 0,0, 1,5 e $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário.

(a) – sem adição de Cu e sem calcário; (b) – com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e sem calcário; (c) – sem adição de Cu e com $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário; (d) – com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e com $1,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário; (e) – sem adição de Cu e com $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário; (f) – com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu e com $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário. Setas: células do córtex com acúmulo de compostos fenólicos. Barras = $50 \text{ }\mu\text{m}$.

Tabela 7. Diâmetro, áreas do córtex e do cilindro vascular, número de camadas do córtex e número de células do córtex com compostos fenólicos de raízes de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Cu (mg kg ⁻¹)	Dose de calcário (Mg ha ⁻¹)			Média
	0,0	1,5	3,0	
----- Diâmetro da raiz (mm) -----				
0	389,3 aB	323,3 aA	320,7 aA	344,4 B
50	573,2 aA	396,0 bA	332,2 bA	433,8 A
Média	481,2 a	359,6 b	326,5 b	
----- Área do córtex (mm ²) -----				
0	97,0 aB	73,9 aA	72,4 aA	81,1 B
50	220,7 aA	103,6 bA	79,7 bA	134,7 A
Média	158,8 a	88,8 b	76,1 b	
----- Área do cilindro vascular (mm ²) -----				
0	8,7 aB	5,8 aA	6,9 aA	7,1 B
50	16,8 aA	8,6 bA	8,1 bA	11,1 A
Média	12,7 a	7,2 b	7,5 b	
----- Número de camadas do córtex -----				
0	7 ^{ins}	5	5	6 B
50	8	6	6	7 A
Média	7 a	6 b	5 b	
----- Número de células do córtex com compostos fenólicos -----				
0	19 aB	12 aA	9 aA	14 B
50	44 aA	20 bA	7 bA	23 A
Média	31 a	16 b	8 b	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ins = interação não significativa.

Tabela 8. Matéria seca de raízes, do caule e das folhas, e incremento em altura de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses crescentes de calcário.

Cu (mg kg ⁻¹)	Dose de calcário (Mg ha ⁻¹)			Média
	0,0	1,5	3,0	
----- Matéria seca de raízes (g) -----				
0	2,66 aA ⁽¹⁾	2,17 aA	2,18 aA	2,34 A
50	1,56 bB	2,19 aA	1,76 abA	1,84 B
Média	2,11 ^{bns}	2,18	1,97	
----- Matéria seca do caule (g) -----				
0	0,66 aA	0,64 aA	0,57 aA	0,62 A
50	0,37 bB	0,44 abB	0,57 aA	0,46 B
Média	0,52 ^{bns}	0,54	0,57	
----- Matéria seca das folhas (g) -----				
0	1,48 ^{ins}	1,71	1,58	1,59 A
50	1,11	1,25	1,38	1,25 B
Média	1,29 ^{bns}	1,48	1,48	
----- Incremento em altura (cm) -----				
0	33,2 aA	29,9 aA	29,8 aA	30,9 A
50	15,1 bB	16,7 bB	26,9 aA	19,6 B
Média	24,1 ab	23,3 b	28,3 a	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05); bns = Fator B (calagem) não significativo; ins = interação não significativa.

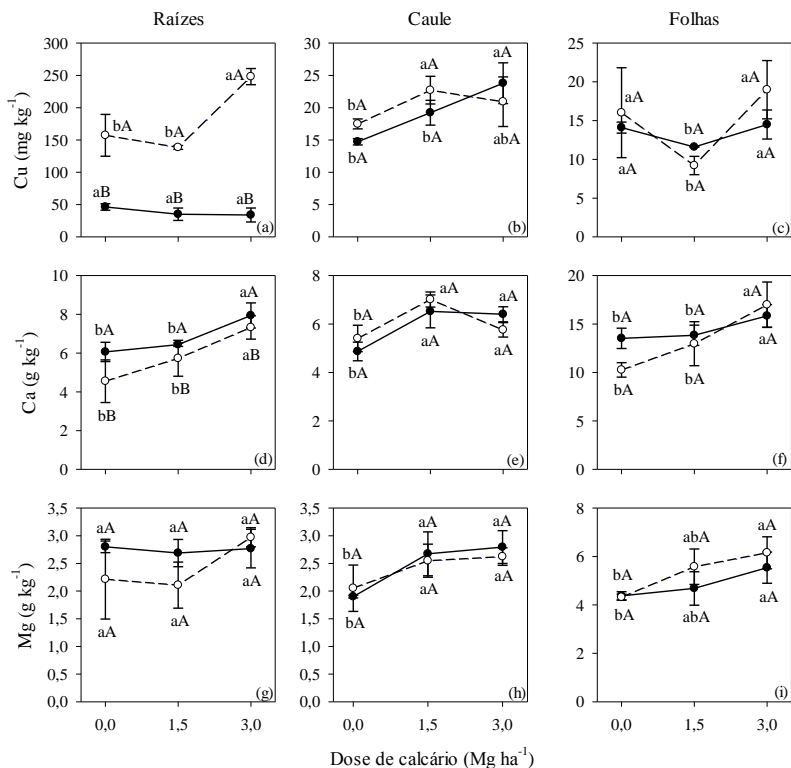


Figura 5. Teores de Cu (a, b, c), Ca (d, e, f) e Mg (g, h, i) em raízes, caule e folhas, respectivamente, de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses de calcário.

Linha contínua: sem adição de Cu; linha tracejada: com adição de Cu. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (fator Cu) e pela mesma letra minúscula (fator calagem) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais em cada ponto correspondem ao desvio padrão.

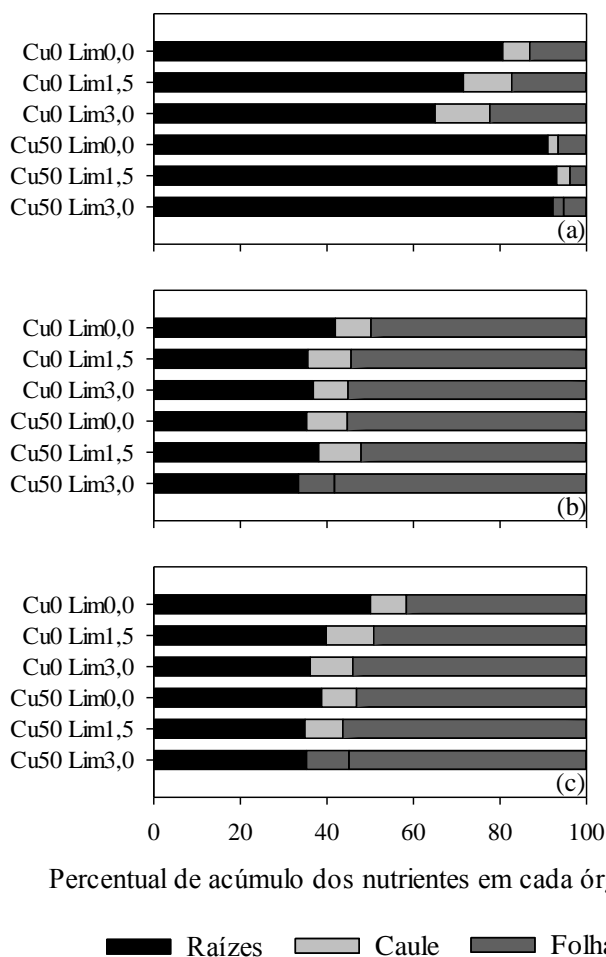


Figura 6. Porcentagem relativa de Cu (a), Ca (b) e Mg (c) acumulados nas raízes, no caule e nas folhas de videiras jovens ‘Niágara Branca’ (*Vitis labrusca*) cultivadas em solo com e sem adição de Cu e com doses de calcário.

Cu0 Lim0,0 – sem adição de Cu e sem calcário; Cu0 Lim1,5 – sem adição de Cu e com 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu0 Lim3,0 – sem adição de Cu e com 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu50 Lim0,0 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e sem calcário; Cu50 Lim1,5 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário; Cu50 Lim3,0 – com adição de 50 mg kg⁻¹ de Cu e com 3,0 Mg ha⁻¹ de calcário.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dose de 50 mg kg⁻¹ de Cu adicionada no solo sem a calagem causou toxidez às plantas de aveia preta e de videiras jovens. Na aveia preta, o Cu diminuiu o incremento de MS de raízes e parte aérea, o crescimento das plantas e a absorção de nutrientes, como o N, P, K, Ca, Mg e Fe. Além disso, diminuiu a concentração de clorofila nas folhas e aumentou os teores de carboidratos solúveis totais e amido total neste mesmo órgão. Nas videiras jovens, a adição de Cu no solo afetou a estrutura anatômica das raízes, reduziu a MS de raízes, caule e folhas, o crescimento das plantas e o teor de Ca nas raízes e incrementou o Cu acumulado nas raízes.

No solo que não recebeu a calagem, a adição de 50 mg kg⁻¹ Cu causou a degeneração das raízes de aveia preta, o que levaria à morte da planta caso o cultivo fosse prolongado. Nas videiras jovens, no mesmo tratamento, não houve a morte de plantas, mas ocorreu a redução dos parâmetros de crescimento. A reprodução dessas condições em campo, com a redução do crescimento das videiras, poderia ocasionar o retardamento do início do período produtivo, causando prejuízos econômicos ao produtor. Ademais, com a morte de plantas de aveia preta, espécie utilizada como planta de cobertura do solo em vinhedos, o solo ficaria descoberto, resultando em menor ciclagem de nutrientes e maior potencial de erosão, podendo causar danos ambientais e também prejudicar o cultivo das videiras.

O incremento das doses de calcário aumentou os valores de pH e os teores de Ca e Mg trocáveis no solo, que contribuíram para amenizar os efeitos de toxidez de Cu nas duas espécies. A dose de 1,5 Mg ha⁻¹ de calcário amenizou, em parte, os efeitos tóxicos do Cu, enquanto a do-

se de $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ teve um efeito amenizante mais eficiente para as videiras jovens e, em parte, para a aveia preta. Sendo assim, é possível afirmar que a aveia preta é mais suscetível à toxidez de Cu que as videiras jovens.

Na aveia preta, o incremento das doses de calcário amenizou os efeitos tóxicos do Cu pela redução da sua absorção e pela melhor distribuição dos outros nutrientes no interior das plantas. Apesar disso, a MS e a altura das plantas de aveia preta cultivadas no solo com adição de 50 mg kg^{-1} de Cu apresentaram valores inferiores aos obtidos nas plantas cultivadas em solo sem adição do metal, mesmo com a dose de $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário. Nas videiras jovens, o aumento da dose de calcário amenizou os efeitos tóxicos do Cu pelo incremento dos teores de Ca e Mg no interior da planta, por evitar o transporte de Cu em excesso para a parte aérea e por reduzir os efeitos negativos na anatomia das raízes e no crescimento das plantas.

Considerando um cultivo concomitante de aveia preta e de videiras jovens em uma área de vinhedo com um solo com características semelhantes ao utilizado no presente estudo, a dose de $3,0 \text{ Mg ha}^{-1}$ de calcário seria a mais adequada para amenizar os efeitos de toxidez de Cu e permitir o bom crescimento e desenvolvimento das duas espécies.

Na perspectiva de continuidade e no avanço das pesquisas com a mesma abordagem, além das variáveis analisadas, poderiam ser explorados parâmetros morfológicos nas raízes, como o comprimento radicular, a contagem do número de pelos radiculares e a emissão de raízes secundárias. Também poderiam ser estudados os mecanismos de defesa das videiras e de outras espécies ao estresse, tanto por Cu quanto por outros metais. Nesse sentido, a identificação e a quantificação de enzimas

e de compostos fenólicos que atuam na defesa da planta contra o estresse oxidativo, assim como analisar a capacidade de alocação do metal em organelas ou compartimentos subcelulares nas quais o metabolismo é restrito podem ser úteis. Além disso, poderiam ser testadas doses de cálcio em solos com diferentes classes texturais, com a finalidade de se estabelecer a dose mais adequada para amenizar a toxidez de Cu em cada condição de solo.

5. REFERÊNCIAS

AGBENIN, J.O.; OLOJO, L.A. Competitive adsorption of copper and zinc by a Bt horizon of a savanna Alfisol as affected by pH and selective removal of hydrous oxides and organic matter. **Geoderma**, v.119, p.85-95, 2004.

ALAOUI-SOSSÉ, B.; GENET, P.; VINIT-DUNAND, F.; TOUSSAINT, M.L.; EPRON, D.; BADOT, P.M. Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. **Plant Science**, v.166, p.1213-1218, 2004.

ARDUINI, I.; GODBOLD, D. L.; ONNIS, A. Influence of copper on root growth and morphology of *Pinus pinea* L. and *Pinus pinaster* Ait. seedlings. **Tree Physiology**, v.15, p.411-415, 1995.

BORGHI, M.; TOGNETTI, R.; MONTEFORTI, G.; SEBASTIANI, L. Responses of *Populus x euramericana* (*P. deltoides* x *P. nigra*) clone Adda to increasing copper concentrations. **Environmental and Experimental Botany**, v.61, p.66-73, 2007.

BOUAZIZI, H.; JOUILI, H.; GEITMANN, A.; EL FERJANI, E. Structural changes of cell wall and lignifying enzymes modulations in bean roots in response to copper stress. **Biological Trace Element Research**, v.136, p.232-240, 2010.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária: Brasília, 2009. 399p.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: Micronutrients. In: MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants (third edition)**. Londres: Academic Press, 2012. p.191-248.

BRUNETTO, G; MIOTTO, A; CERETTA, C.A.; SCHMITT, D.E.; HEINZEN, J.; MORAES, M.P.; CANTON, L.; TIECHER, T.L.; COMIN, J.J.; GIROTTTO, E. Mobility of copper and zinc fractions in fungicide amended vineyard sandy soils. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v.60, p.609-624, 2014.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J.L.; OCETE, R.; FIGUEROA, M.E.; CANTOS, M. Growth and photosynthetic responses to copper in wild grapevine. **Chemosphere**, v.93, p.294-301, 2013.

CAMBROLLÉ, J.; GARCÍA, J.L.; FIGUEROA, M.E.; CANTOS, M. Evaluating wild grapevine tolerance to copper toxicity. **Chemosphere**, v.120, p.171-178, 2015.

CHAIGNON, V.; HINSINGER, P. A biotest for evaluating copper bio-availability to plants in a contaminated soil. **Journal of Environmental Quality**, v.32, p.824-833, 2003.

CHEN, P.Y.; LEE, Y.I.; CHEN, B.C.; JUANG, K.W. Effects of calcium on rhizotoxicity and the accumulation and translocation of copper by grapevines. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.73, p.375-382, 2013.

CIPRIANI, H. N.; DIAS, L. E.; COSTA, M. D.; CAMPOS, N. V.; AZEVEDO, A. A.; GOMES, R. J.; FIALHO, I. F.; AMEZQUITA, S. P. M. Arsenic toxicity in *Acacia mangium* Willd. and *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. seedlings. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.37, p.1423-1430, 2013.

COUTO, R.R.; BENEDET, L.; COMIN, J.J.; BELLI FILHO, P.; MARTINS, S.R.; GATIBONI, L.C.; RADETSKI, M.; VALOIS, C. M.; AMBROSINI, V.G.; BRUNETTO, G. Accumulation of copper and zinc fractions in vineyard soil in the mid-western region of Santa Catarina, Brazil. **Environmental Earth Sciences**, 2015.

DALLA ROSA, J.; MAFRA, A.L.; NOHATTO, M.A.; FERREIRA, E.Z.; OLIVEIRA, O.L.P.; MIQUELLUTI, D.J.; CASSOL, P.C.; MEDEIROS, J.C. Atributos químicos do solo e produtividade de videiras alterados pelo manejo de coberturas verdes na Serra Gaúcha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.33, p.179-187, 2009.

DEMIDCHIK, V.; CUIN, T.A.; SVISTUNENKO, D.; SMITH, S.J.; MILLER, A.J.; SHABALA, S.; SOKOLIK, A.; YURIN, V. Arabidopsis root K^+ -efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-

channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death. **Journal of Cell Science**, v.123, p.1468-1479, 2010.

DUBOIS, M; GILLEWS, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBER, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p. 350-356, 1956.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CPNS, 1997. 212p.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3 ed. Embrapa: Brasília, 2013. 353p.

GALZY, R. Technique de thermothérapie des viroses de la vigne. **Ann Épiphyt**, v.15, n.3, p. 245-256, 1964.

HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MOLLER, I. S.; WHITE, P. Functions of macronutrients. In: MARSCHNER, P. **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)**. London: Academic Press, 2012. p.135-189.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v.57, p.1332-1334, 1979.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.T. **The water culture method for growth plants without soil.** California Agriculture Experiment Station: Berkeley, 1950. 32p. (University of California, Circular 347).

JIANG, W.; LIU, D.; LIU, X. Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. **Biologia Plantarum**, v.44, n.1, p.105-109, 2001.

JONES JR., J.B.; WOLF, B.J.; MILLS, H.A. **Plant analysis handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide.** Georgia: Micro-Macro Publishing, 1991. 213p.

JORIS, H.A.W.; FONSECA, A.F.; ASAMI, V.Y.; BRIEDIS, C.; BORSZOWSKI, P.R.; GARBUIO, F.J. Adsorção de metais pesados após calagem superficial em um Latossolo Vermelho sob sistema de plantio direto. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.43, p.1-10, 2012.

JUANG, K.W.; LEE, Y.I.; LAI, H.Y.; WANG, C.H.; CHEN, B.C. Copper accumulation, translocation, and toxic effects in grapevine cuttings. **Environmental Science and Pollution Research**, v.19, n.4, p.1315–1322, 2012.

JUANG, K.W.; LEE, Y.I.; LAI, H.Y.; CHEN, B.O. Influence of magnesium on copper phytotoxicity to and accumulation and translocation in grapevines. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.104, p.36-42, 2014.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 4 ed. CRC Press: Boca Raton. 2011. 505p.

KAMINSKI, J.; SILVA, L.S.; CERETTA, C.A.; RHEINHEIMER, D.S. Acidez e calagem em solos do Sul do Brasil: Aspectos históricos e perspectivas futuras. In: CERETTA, C.A.; SILVA, L.S.; REICHERT, J.M. **Tópicos em Ciência do Solo**, Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.307-332.

KE, W.; XIONG, Z.T.; CHEN, S.; CHEN, J. Effects of copper and mineral nutrition on growth, copper accumulation and mineral element uptake in two *Rumex japonicus* populations from a copper mine and an uncontaminated field sites. **Environmental and Experimental Botany**, v.59, p.59-67, 2007.

KOPITTKE, P.M.; ASHER, C.J.; BLAMEY, F.P.C.; MENZIES, N.W. Toxic effects of Cu^{2+} on growth, nutrition, root morphology, and distribution of Cu in roots of Sabi grass. **Science of the Total Environment**, v.407, p.4616–4621, 2009.

KOPITTKE, P.M.; KINRAIDE, T.B.; WANG, P.; BLAMEY, F.P.C.; REICHMAN, S.M.; MENZIES, M.W. Alleviation of Cu and Pb rhizotoxicities in cowpea (*Vigna unguiculata*) as related to ion activities at root-cell plasma membrane surface. **Environmental Science & Technology**, v.45, p.4966-4973, 2011.

KOVÁČIK, J.; BAČKOR, M. Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. **Water, Air & Soil Pollution**, v.185, p.185-193, 2007.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B. Dynamics of phenolic acids and lignin accumulation in metal-treated *Matricaria chamomilla* roots. **Plant Cell Reports**, v.27, p.605-615, 2008.

LEQUEUX, H.; HERMANS, C.; LUTTS, S.; VERBRUGGEN, N. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 673-682, 2010.

LI, S. X.; WANG, Z. H.; STEWART, B. A. Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. **Advances in Agronomy**, v.118, p.205-397, 2013.

LLORENS, N.; AROLA, L.; BLADÉ, C.; MAS, A. Effects of copper exposure upon nitrogen metabolism in tissue cultured *Vitis vinifera*. **Plant Science**, v.160, p.159–163, 2000.

LUO, X.S.; LI, L.Z.; ZHOU, D.M. Effect of cations on copper toxicity to wheat root: Implications for the biotic ligand model. **Chemosphere**, v.73, p.401-406, 2008.

LYNCH, J.; MARSCHNER, P.; RENGEL, Z. Effect of internal and external factors on root growth and development. In: MARSCHNER, P.

Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition).

London: Academic Press, 2012. p.331-346.

MCCREADY, R.M., GUGGOLZ, J., SILVIERA, V.; OWENS, H.S.

Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas.

Analytical Chemistry, v.22, p.1156-1158, 1950.

MELO, G.W.; BRUNETTO, G.; SCHAFER JUNIOR, A.; KAMINSKI,

J.; FURLANETTO, V. Matéria seca e acumulação de nutrientes em videiras jovens cultivadas em solos com diferentes níveis de cobre. **Revis-**

ta Brasileira de Agrociência, v.14, n.4, p.72-76, 2008.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environ-**

mental Studies, v.15, n.4, p.523-530, 2006.

MICHAUD, A.M.; CHAPPELLAZ, C.; HINSINGER, P. Copper phytotoxicity affects root elongation and iron nutrition in durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). **Plant and Soil**, v.310, p.151-165, 2008.

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.H.M.; HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy met-

als by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.51, p.47-58, 1993.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v.59, n.2, p.368-373, 1964.

OFEL-MANU, P.; WAGATSUMA, T.; ISHIKAWA, S.; TAWARAYA, K. The plasma membrane strength of the root-tip cells and root phenolic compounds are correlated with al tolerance in several common woody plants. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.47, n.2, p.359-375, 2001.

OUZOUNIDOU, G.; ELEFThERIOU, E.P.; KARATAG, S. Ecophysical and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae). **Canadian Journal of Botany**, v.70, p.947-957, 1992.

POTTERS, G.; PASTERNAK, T.P.; GUISEZ, Y.; PALME, K.J.; JANSEN, M.A.K. Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? **Trends in Plant Science**, v.12, n.3, p.98-105, 2007.

RODRIGO-MORENO, A.; ANDRÉS-COLÁS, N.; POSCHENRIEDER, C.; GUNSE, B.; PEÑARRUBIA, L.; SHABALA, S. Calcium- and potassium-permeable plasma membrane transporters are activated by copper in Arabidopsis root tips: linking copper transport with cytosolic hydroxyl radical productionpce. **Plant, Cell and Environment**, v.36, p.844-855, 2012.

RUCINSKA, R.; WAPLAK, S.; GWÓZDZ, E. A. Free radical formation and activity of antioxidant enzymes in lupin roots exposed to lead. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.37, p.187-194, 1999.

SANTOS, H.P.; MELO, G.W.B.; LUZ, N.B.; TOMASI, R.J. **Comportamento fisiológico de plantas de aveia (*Avena strigosa*) em solos com excesso de cobre**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 8p. 2004. (Comunicado Técnico, 49).

SCHMIDT, E.C.; SCARIOT, L.A.; ROVER, T; BOUZON, Z.L. Changes in ultrastructure and histochemistry of two red macroalgae strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), as a consequence of ultraviolet B radiation exposure. **Micron**, v.40, n.8, p.860-869, 2009.

SHELDON, A.R.; MENZIES, N.W. The effect of copper toxicity on the growth and root morphology of Rhodes grass (*Chloris gayana* Knuth.) in resin buffered solution culture. **Plant and Soil**, v.278, p.341-349, 2005.

SOARES, C.R.F.S.; SIQUEIRA, J.O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.44, p.833-841, 2008.

SPANN, T.M.; SCHUMANN, A.W. **Mineral Nutrition Contributes to Plant Disease and Pest Resistance**. Florida: IFAS, University of Florida. 2010. 5p.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

TOSELLI, M.; BALDI, E.; MARCOLINI, G.; MALAGUTI, D.; QUARTIERI, M.; SORRENTI, G.; MARANGONI, B. Response of potted grapevines to increasing soil copper concentration. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v.15, n.1, p.85-92, 2009.

WELLBURN, A.R. The Spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p.307–313, 1994.

YAO, Y.; XU, G.; MOU, D.; WANG, J.; MA, J. Subcellular Mn compartmentation, anatomic and biochemical changes of two grape varieties in response to excess manganese. **Chemosphere**, v.89, p.150-157, 2012.

YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v.36, p.409–430, 2009.

ZHANG, L.; PAN, Y.; LV, W.; XIONG, Z.T. Physiological responses of biomass allocation, root architecture, and invertase activity to copper stress in young seedlings from two populations of *Kummerowia stipulacea* (maxim.) Makino. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.104, p.278-284, 2014.